



Amoxicillin i minkfoder - stabilitet og resistens

Lassen, Desiree Corvera Kløve; Nikolaisen, Nanett Kvist; Ronaghinia, Amir A.; Damborg, Peter; Kristensen, Katja Ann; Chriél, Mariann; Struve, Tina; Frandsen, Henrik Lauritz; Jensen, Lars Bogø; Pedersen, Karl

Published in:
Kopenhagen Fur Forskning. Faglig Årsberetning 2018

Publication date:
2018

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Lassen, D. C. K., Nikolaisen, N. K., Ronaghinia, A. A., Damborg, P., Kristensen, K. A., Chriél, M., Struve, T., Frandsen, H. L., Jensen, L. B., & Pedersen, K. (2018). Amoxicillin i minkfoder - stabilitet og resistens. In *Kopenhagen Fur Forskning. Faglig Årsberetning 2018* (pp. 132-135). Kopenhagen Fur Forskning. Faglig Årsberetning

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

KOPENHAGEN FUR FORSKNING

FAGLIG ÅRSBERETNING 2018



KOPENHAGEN FUR RESEARCH

ANNUAL REPORT 2018

Indhold

03

FORORD

Faglig Årsberetning

04-07

ADFÆRD OG VELFÆRD

Nogle mål for minks velfærd i vinter- og vækstperioden påvirkes af observationsdatoen, men ikke den overordnede vurdering

08-15

AVL OG REPRODUKTION

Anvendelse af auktionsregistreringer i avlsværdivurderingen af mink

16-33

DRIFTSFORHOLD OG MANAGEMENT

Plejevalpe accepteres hurtigere og opnår en bedre tilvækst ved tidlig flytning

Effekt af kuldudjævning lige efter fødsel på hvalpenes overlevelse hos 1. og 2. års hunner gennem dieperioden

Afprøvning af to typer hvalpevandingsystemer i dieperioden

Reducering af foderspild i vækstperioden

34-89

ERNÆRING OG FODRING

Udskillelsen af B-vitaminer i urinen fra minkhunner fodret med forskellige niveauer af B-vitamin i perioden januar-maj og fra minkhvalpe i juni

Jerntilskud til minkhvalpe dag 3 efter fødsel

AlphaSoy Premium og Maltodextrin til 4 til 8 uger gamle minkhvalpe

Effekt af høj andel fersk fjerkræ, højtrykskogt affedt fjerkræ eller fiskeafskær på hvalpetilvækst i sidste halvdel af diegivningsperioden

Effekt af tildeling af energirige ørredpillur som supplement til standard dieperiodefoder til mink hunner i diegivningsperioden

Fodring af hunner og hvalpe i dieperioden med Startex 100 – en kulhydratkilde med høj fordøjelighed og vandbindingsevne

Effekt af fodring med fjerkræbiprodukter til minkhvalpe i vækst- og pelssætningsperioden

Effekt af op til 5% fluelarvemel i foder til mink i vækst- og pelssætningsperioden

Fodring med høj andel vegetabiliske proteiner til mink hunner i dieperioden

90-144

SUNDHED

Forsøg med inaktivering af Aleutian mink disease virus (AMDV) i gylle ved høj pH eller varme

Eksperimentel smitte af mink med plasmacytosevirus i foder

Sygdomsudvikling ved aerosol og intraperitoneal smitte med plasmacytosevirus

Foreløbige resultater af en klinisk og patologisk undersøgelse af blærebetændelse og urinvejssten hos mink (*Neovison vison*)

Immunologisk respons mod mink astrovirus

Lav koncentration af immunglobulin G i blodet er associeret med fedtede hvalpe

Klinisk studie af effekten af 3 alternative behandlinger sammenlignet med konventionel amoxicillinterapi af minkhvalpe med diarré i dieperioden

Overførsel af amoxicillin fra behandlede hunner til deres diende hvalpe

Amoxicillin i minkfoder – stabilitet og resistens

Eksperimentel eksponering af mink med MRSA i foderet

Forekomst af MRSA i mink og miljø på danske minkgårde

Vaccination af hunner i vinterperioden for at styrke deres generelle immunitet

KOPENHAGEN FUR

Agro Food Park 15
DK-8200 Århus N
Danmark

Tlf.: 7213 2800
forskning@kopenhagenfur.com

FAGLIG ÅRSBERETNING 2018

Oplag: 500 stk
Typografi: Din Pro

REDAKTION

Kopenhagen Forskning & Rådgivning
Redaktionen sluttede 31.01.2018

PRODUKTION OG TRYK

Rosendahl's a/s

ISSN 2445-9437



**KOPENHAGEN
FUR**

Forord

FAGLIG ÅRSBERETNING



Faglig Årsberetning udkommer igen i år i et nyt og mere tidssvarende design for at nå ud til en bredere kreds af danske avlere.

Faglig Årsberetning 2018 indeholder 27 faglige artikler, som er et resultat af årets indsats fra København Furs samarbejdspartnere på de danske universiteter, såvel som København Furs egne medarbejdere i København Fur Forskning og Diagnostik.

Indholdet i Faglig Årsberetning 2018 har stor faglig bredde og dybde, så artiklerne dækker alle faggrene både mht. grundforskning, metodeudvikling og undersøgelser med direkte relevans for den praktiske anvendelse på danske minkfarme og fodercentraler. De faglige artikler er inddelt i 5 overordnede emner: 1) adfærd, 2) avl og reproduktion, 3) ernæring og fodring, 4) sundhed og 5) driftsforhold.

En stor tak til alle bidragsydere til Faglig Årsberetning 2018. I har alle lagt et stort stykke arbejde i jeres forskning og udarbejdelsen af faglige indlæg.

Desuden vil jeg takke Mette Fertner, Karoline Blaabjerg, Tina Struve, Kevin Byskov, Bente Krogh Hansen, Reni Hvam Hansen og Maria Blæsbjerg Orbitsø for kritisk gennemlæsning og opsætning.

Med håb om at Faglig Årsberetning 2018 må blive fundet spændende, lærerig og inspirerende, ønsker jeg god fornøjelse med læsningen.

Aarhus, marts 2019
Forskningschef
Peter Foged Larsen

NOGLE MÅL FOR MINKS VELFÆRD I VINTER- OG VÆKSTPERIODEN PÅVIRKES AF OBSERVATIONS DATOEN, MEN IKKE DEN OVERORDNEDE VURDERING

Dansk sammendrag af artikel som bliver udgivet i *Animal Welfare* (Marsbøll *et al.*, in press)

Af Anna F. Marsbøll¹, Britt I.F. Henriksen¹, Bente K. Hansen² & Steen H. Møller¹

¹Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Allé 20, 8830 Tjele, Danmark

²Rådgivning og Avlsservice, København Fur, Agro Food Park 15, 8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet var at teste om WelFur-Mink vurderingen ændrer sig med datoen i observationsperioden. Gentagne velfærdsvurderinger på de samme minkfarme i vinter- og vækstperioden viste, at resultatet af enkelte mål for velfærden ændrer sig, mens den overordnede vurdering af farmenes velfærd kun sjældent påvirkes. Da risikoen dog foreligger bør man overveje om der skal tages højde for observationsdatoerne i WelFur-Mink.

Marsbøll, A.F., Henriksen, B.I.F., Hansen, B.K. & Møller, S.H. 2019. Nogle mål for minks velfærd i vinter- og vækstperioden påvirkes af observationsdatoen, men ikke den overordnede vurdering. Faglig Årsberetning 2018. 4-7. København Forskning. Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

The purpose was to test if the WelFur assessment changes with date within the assessment period. Repeated welfare assessments on the same mink farms in the winter and growth periods showed, that the result of some welfare measurements changes, while the overall categorization of the welfare at farm level rarely is affected. As it might change, however, it should be considered how the date of assessment can be addressed in WelFur-Mink.

Marsbøll, A.F., Henriksen, B.I.F., Hansen, B.K. & Møller, S.H. 2019. Some measurements of mink welfare during the winter and growth periods depends on the date of observation, but the overall assessment does not. Annual Report 2018. 4-7. Copenhagen Research. Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: animal welfare, feasibility, mink production, reliability, welfare assessment, WelFur.

Indledning

Hvis man vil lave en overordnet vurdering af dyrenes velfærd, der er troværdig og anvendelig til sammenligning af farme, er det vigtigt at den er robust og uafhængig af eksterne faktorer som vejr og tidspunkt på dagen. I stærkt sæsonafhængige produktioner som mink, afhænger dyrenes stadie af datoen for vurderingen. Af praktiske hensyn strækker observationsperioderne i WelFur sig over ca. 2 måneder (Møller *et al.*, 2015), men selv inden for denne relativt korte periode er der risiko for, at resultatet af velfærdsvurderingen kan påvirkes af observationsdatoen. Man har tidligere vist, at enkelte velfærdsindikatorer i diegivningsperioden påvirkes af observationsdatoen, med stigende risiko for problemer med hvalpenes alder (Henriksen & Møller, 2013). I nogle tilfælde (hvis de sammenvejede pointværdier lå tæt på grænsen mellem kategorier) ville det kunne påvirke den endelige velfærdskategori. Hvis der er en lignende udvikling i vinter- og vækstperioden, vil det være muligt at tage hensyn til dette ved at fordele de tre årlige vurderinger på en farm således, at farmene på skift besøges tidligt, i midten eller sidst i de forskellige perioder. Observationsperioderne i WelFur-mink er 1) vinterperioden med avlsdyr i januar-februar, 2) diegivningsperioden i maj-juni, og 3) vækstperioden fra sidst i september og frem til sortering-/pelsning. Formålet med dette studie var, at undersøge om observationsdatoen har en betydning for vurderingen af velfærden i vinter- og vækstperioden.

Baseret på den foreliggende viden forventede vi at forekomsten af for tynde mink, pelsnav og stereotypi ville stige med datoen igennem vinterperioden og at forekomsten af sår, diarré og nysgerrige mink ville stige med datoen igennem efteråret. Vi forventede at sådanne ændringer ville have en begrænset effekt på WelFur-pointværdierne på indikator-, kriterie- og principniveau og ikke påvirke den endelig placering i en af de fire velfærds kategorier.

Disse forventninger er baseret på at: 1) transformationerne fra registreringerne på farmen til WelFur-point ikke er lineære; 2) de trinvisse aggregeringer af flere indikatorer og over tre sæsoner reducerer betydningen af hver enkelt indikator; 3) de fire overordnede kategorier er brede og vil kun give ændringer hvis pointværdien for et eller flere principper ligger tæt på grænsen mellem kategorierne..

Materiale og metoder

Forsøgsdesign

Undersøgelsen inkluderede otte farme i Jylland og på Fyn. Antallet af tæver, indhusningsforhold, fodercentral og fordelingen af farvetyper varierede mellem farmene. Der blev lavet WelFur-Mink vurderinger på hver enkelt farm, fire gange i løbet af vækstperioden i 2014 (mellem 23. september og sortering/pelsning) og tre gange i vinterperioden i 2015 (mellem 1. januar og 20. februar), baseret på WelFur-Mink protokollen (Møller et al., 2015). Data på farmniveau blev kun registreret en gang per periode.

Vurderingerne var lavet på en stratificeret stikprøve, som repræsenterede hver farm i forhold til køn, alder, farvetype og indhusning, som beskrevet i WelFur-Mink protokollen (Møller et al., 2015). Stikprøven var på 120 bure i vinterperioden og 90 bure i vækstperioden og var den samme ved hver vurdering inden for observationsperioden. Dvs. det var de samme dyr, der blev vurderet gennem observationsperioden. Farmene blev også vurderet en enkelt gang i diegivningsperioden (mellem 5. maj og 1. juli eller fravænning), for at have data til udregning af WelFur point på tværs af de tre produktionsperioder på hver farm.

Velfærdsindikatorer

Stereotyp adfærd blev observeret enten en time før farmens forventede fodring, eller som sidste observation på dagen. Fodringstidspunkt og tidspunkt for sidste observation på dagen varierede mellem farme, men observationstidspunkterne på hver enkelte farm var de samme ved alle besøg i samme observationsperiode.

Huld, pelsgnav, sår og skader, og diarré, blev vurderet uafhængig af tidspunkt på dagen. Temperament blev ikke vurderet fra en halv time før til en halv time efter fodring. WelFur-point for hver vurdering per farm blev beregnet, ved at bruge aktuelle værdier for de indikatorer vi forventede ville ændre sig i hver periode og gennemsnitlige værdier af alle besøg i observationsperioden for de andre indikatorer.

Vurderingsværktøj og aggregering

I WelFur-Mink vurderes velfærden på den enkelte farm ud fra 22 velfærdsindikatorer, som tilsammen dækker de 12 velfærds-kriterier, der udgør de fire velfærdsprincipper i WelFur-Mink (Tabel 1). De fire velfærdsprincipper danner grundlaget for den endelig placering i en af de fire velfærds-kategorier: Bedste nuværende praksis, God nuværende praksis, Acceptabel nuværende praksis og Uacceptabel nuværende praksis.

Nogle af de 22 velfærdsindikatorer består af flere underliggende indikatorer som skal lægges sammen. De fleste velfærdsindikatorer vurderes i alle tre observationsperioder, mens nogle er periodespecifikke. Resultatet fra de

TABEL 1 OVERSIGT OVER WELFUR-MINK (MARSBØLL ET AL., 2015)

PRINCIPPER	KRITERIER	INDIKATORER
1 God fodring	1 Fravær af længerevarende sult	Er der for tynde mink?
	2 Fravær af længerevarende tørst	Har minkene adgang til egnet drikkevand? Virker drikkeniplen, og er den ren?
2 God indhusning	3 Komfort ved hvile	Har alle mink adgang til en redekasse? Er redekassen tør, ren, uden skarpe kanter og uden løpper?
	4 Temperaturmæssig komfort	Er burene beskyttet mod vind, sollys og varme? Er redekassen isoleret, fri for træk, og er der adgang til strøelse?
	5 Bevægelsesfrihed	Er der tilstrækkelig plads i burene?
3 God sundhed	6 Fravær af skader	Har minkene sår eller skader?
	7 Fravær af sygdom	Hvor mange mink døde i løbet af perioden? Er der syge mink? Er der mink med diarré eller bevægelsesproblemer?
	8 Fravær af smerte pga. management	Er der velfungerende metoder til aflivning af minkene?
4 Hensigtsmæssig adfærd	9 Udfoldelse af social adfærd	Indhuses minkene enkeltvis, parvis eller i grupper i vækstperioden? Hvordan er procedurerne ved fravænning?
	10 Udfoldelse af anden adfærd	Udviser minkene stereotyp adfærd? Har minkene berigelse i burene? Har minkene pelsnav?
	11 Gode menneske-dyr relationer, samt	Er dyrene frygtsomme eller nysgerrige? Hvor ofte og hvor længe håndteres minkene?
	12. Positive følelser	

enkelte indikatorer vurderet på farmen i hver periode skal først regnes om til point på en skala fra 0 (værst) til 100 (bedst), for derefter at blive samlet på tværs af perioder til point for hver af de 22 velfærdsindikatorer. Disse regnes så sammen til point per 12 velfærds-kriterier og fire velfærdsprincipper. Sammenvejningen mellem de forskellige niveauer er baseret på Choquet integraler (Møller et al., 2015), som tager udgangspunkt i den laveste pointværdi og kun tillader en delvis kompensation fra andre højere værdier.

Dataanalyse

Ved analyse af data er vinterperioden delt op i tre delperioder og vækstperioden er delt op i fire. Forskelle mellem delperioder er analyseret for hver observationsperiode for sig, både på indikatorniveau og med hensyn til de udregnede WelFur-point. Besøgene på de enkelte farme var desværre ikke helt ligeligt fordelt mellem delperioder, hvilket betyder at nogen farme er blevet vurderet to gange inden for den samme delperiode og slet ikke i andre delperioder. Resultaterne på indikatorniveau er præsenteret som odds ratio (OR). Odds angiver forholdet mellem sandsynligheden for at noget sker (f.eks. dyret har et sår) og sandsynligheden for at det ikke sker (dyret har ingen sår). Odds ratio angiver forholdet mellem to odds. Resultaterne på pointniveau er præsenteret som ændringerne i pointværdierne mellem delperioderne.

Resultater

Vinterperioden

Der var lavere odds for "for tynde dyr" i delperiode 3 end i delperiode 1 og 2 ($\chi^2 = 31,1$, $df = 2$, $P < 0,001$), hvor odds i delperiode 3 var 0,002 gang lavere end delperiode 1 og 0,01 gang lavere end delperiode 2. Det gennemsnitlige huld faldt gennem perioden. Der var signifikant ændring i odds for forekomst af pelsnav ($\chi^2 = 30,1$, $df = 2$, $P < 0,001$) med henholdsvis 4,5 og 6,4 ganger højere odds i henholdsvis periode 2 og 3, sammenlignet med periode 1. Der var ingen signifikant ændring i odds for stereotyperende mink mellem delperioderne.

Der var ingen effekt af de fundne ændringer i for tynde dyr på de sammenvejede pointværdier på kriterie- og principniveau. Ændring i pelsnav var op til 8 point på indikatorniveau, 4,5 point på kriterieniveau og op til 1 point på principniveau.

Vækstperioden

Der var højere odds for sår og skader i delperiode 4 sammenlignet med delperiode 1 ($\chi^2 = 9,0$, $df = 3$, $P = 0,03$), med 2,1 gang højere odds i delperiode 4 end i delperiode 1. Der var signifikant ændring i odds for diarré ($\chi^2 = 17,6$, $df = 3$, $P < 0,001$), med odds i delperiode 4 var 11,8 gang, 5,1 gang og 27,9 gang højere end i henholdsvis delperiode 1, 2 og 3. Der var signifikant ændring i odds for tillidsfulde mink ($\chi^2 = 31,1$, $df = 3$, $P < 0,001$), hvor odds for tillidsfulde mink i delperiode 2, 3 og 4 var 1,8 gang, 3,2 gang og 2,2 gang højere end i delperiode 1. Der var også 1,8 gang højere odds for tillidsfulde mink i delperiode 3 sammenlignet med delperiode 2.

Der var stor variation mellem de otte farme, og på en enkelt farm blev der ikke registreret et eneste bur med diarré gennem perioden.

Der var ingen effekt af de fundne ændringer i odds for sår og skader på kriterie- og principniveau. Ændring i odds for diarré var op til 42 point på indikatorniveau, 8 point på kriterieniveau og op til 5 point på principniveau. Ændring i odds for tillidsfulde mink var op til 16 point på indikatorniveau, 8 point på kriterieniveau og op til 4 point på principniveau.

Diskussion

Oddsene (og derved risikoen) for velfærdsproblemer ændrede sig med observationsdatoen for alle de forventede indikatorer både om efteråret og om vinteren, bortset fra for stereotyp adfærd om vinteren.

I vækstperioden var oddsene (og derved risikoen) for både sår og skader, diarré og nysgerrige mink, som forventet højere sidst i perioden. Højere odds for sår og skader og for diarré vil have negativ betydning for dyrenes velfærd, mens højere odds for tillidsfulde mink vil have positiv betydning.

I vinterperioden var odds (og derved risikoen) for pelsnav som forventet højere sidst i perioden, men mod forventning var der ingen statistisk sikker ændring i stereotypi, mens der var lavere odds for mink der var blevet for tynde, sidst i perioden. Dette var overraskende, da det gennemsnitlige huld som forventet faldt gennem perioden. Forklaringen kan være, at man i WelFur-Mink bruger huld til at vurdere "fravær af længerevarende sult" og huld derfor har forskellig betydning i januar og februar. I januar er mink i huld 1 eller 2 ifølge WelFur for tynde, og i februar er mink i huld 1 ifølge WelFur for tynde. Andelen af mink i huld 1 i februar var lavere end andelen af mink i huld 2 i januar. Derfor faldt andelen af mink som blev vurderet som for tynde, selv om andelen af mink i huld 1 og mink i huld 2 steg gennem perioden.

Både i vækstperioden og i vinterperioden vil effekten af observationsdato på de forskellige indikatorer dermed i nogen grad kunne udligne hinanden ved udregning af den endelig placering i en af de fire velfærds-kategorier.

Både i vækstperioden og i vinterperioden viste resultaterne desuden en faldende effekt på pointværdierne ved sammenvejningen af værdierne fra indikatorniveau til kriterie- og principniveau.

Konklusion

Dette studie viste, at forekomsten af de valgte indikatorer, bortset fra stereotypi i vinterperioden, ændrede sig i løbet af observationsperioden, både i vækst- og vinterperioden. Som forventet var der højere odds (og derved risiko) for sår, diarré og nysgerrige mink sidst i vækstperioden end i begyndelsen af perioden, og der var højere odds (og derved risiko) for pelsnav sidst i vinterperioden end i begyndelsen af perioden. Modsat forventet var der lavere odds for dyr der var for tynde sidst i vinterperioden end i begyndelsen af perioden, og ingen forskel i stereotypi.

Nogle ændringer med dato for vurdering var positive med hensyn til dyrevelfærd, og andre var negative. Disse ændringer udlignede i nogen grad hinanden i begge perioder. Ændringer i de valgte indikatorer havde aftagende effekt på WelFur-pointværdierne for hvert niveau af aggregere-

ring og havde ingen eller lille effekt på den endelig placering af en farm i en af de fire velfærds kategorier. Dette vil dermed kun være tilfældet hvis pointværdierne ligger meget tæt på en grænseværdi mellem to kategorier. Man bør derfor nøje vurdere om der er grundlag for at iværksætte tiltag der kan tage højde for observationsdatoerne i WelFur-Mink, for at sikre en vurdering der er helt uafhængig af datoen. Ændringerne i velfærd med datoen for vurderingen er forskellige i hver af de tre observationsperioder, både i forhold til størrelse og retning. Der er derfor ingen simpel måde at håndtere det på samlet for de tre perioder. Hvis det skal håndteres bør det nok gøres indenfor den eller de perioder hvor effekten kan være størst.

Anderkendelse

Vi vil gerne takke avlerne for at lade os følge deres farme gennem et helt år. Vi vil også gerne takke Elna Mortensen og Maria Blæsbjerg-Obitsø, begge fra København Rådgivning, København Fur, for deres hjælp med dataindsamling samt værdifulde kommentarer undervejs. Projektet er finansieret af Fur Europe og Aarhus Universitet.

Referencer

Henriksen, B.I.F. & Møller, S.H. 2013. Ensartet måling af velfærden gennem diegivningen er svært da nogle problemer øges med hvalpenes alder. I Hansen, S.W. & Damgaard, B.M. (red): *Temadag om aktuel minkforskning: DCA rapport nr. 028*. vol. 28, DCA - Nationalt center for fødevarer og jordbrug, s. 51-55.

Møller, SH, Hansen, SW, Malmkvist, J, Vinke, CM, Lidfors, L, Gaborit, M and Botreau, R 2015. *WelFur Welfare assessment protocol for mink*. European Fur Breeders' Association, Brussels, Belgium.

Marsbøll, A.F., Henriksen, BIF., Hansen, BK. & Møller, SH. 2015. *Kan minks velfærd i vinter- og vækstperioden vurderes uafhængigt af observationsdatoen?* I: Møller, SH og Malmkvist, J., 2015. Temadag om aktuel minkforskning. DCA rapport 066, 65-69.

Marsbøll, A.F., Henriksen, BIF., Hansen, BK. & Møller, SH. *Changes in the welfare of mink (Neovison vison) with date of assessment in the winter and growth periods have limited effects on the overall WelFur categorization*. Animal Welfare. In press. ✕



ANVENDELSE AF AUKTIONS- REGISTRERINGER I AVLSVÆRDI- VURDERINGEN AF MINK

Af Trine Villumsen & Mogens Sandø Lund,

Institut for Molekylær Biologi og Genetik, Aarhus Universitet, Blichers Alle 20, DK-8830 Tjele, Danmark

Sammendrag

Formålet med projektet var at undersøge perspektiverne i at inddrage auktionsdata i avlsværdiurderingen af mink. Registreringer fra enkeltavlivede brune mink fra Århus Universitets forsøgsfarm i Foulum blev anvendt til at undersøge arvbarhed og korrelationer for størrelse, kvalitet og pris baseret på henholdsvis kategorisering ved auktion, samt ved livdyr- og skindvurderinger af skind klargjort til auktion. Vi fandt en arvbarhed for alle egenskaber, hvilket indikerede, at der kan opnås avlsfremgang for alle egenskaber. Generelt var arvbarhederne lavest for auktionsegenskaberne, der har en opsortering i relativt få kategorier, hvilket medførte lavere detaljeringsgrad i egenskaberne, i sammenligning med egenskaberne fra livdyr- og skindvurderinger. Vi fandt en høj positiv genetisk korrelation mellem størrelse af skind og pris. Når pris blev korrigeret for størrelse af skind, var der ligeledes en positiv genetisk korrelation mellem pris og kvalitet. Det er således muligt at opnå en højere avlsfremgang ved at inddrage auktionsdata fra beslægtede individer i avlsværdiurderingen, men mere detaljerede (gerne objektive) kvalitets- og størrelsesmål er at foretrække frem for den nuværende grove auktionkategorisering af skindet.

Villumsen, T. Lund, M.S. 2019. Anvendelse af auktionsregistreringer i avlsværdiurderingen af mink. Faglig årsberetning 2018, 8-15. København Forskning, Agro Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Keywords: Auktionsdata, arvbarhed, genetisk korrelation, Neovison vison

The objective of the project was to investigate the perspectives of including auction data in the genetic evaluation of mink. We used registrations from individually culled mink from Aarhus University's Research farm in Foulum, to investigate heritability and correlations for size, quality and price, based on categorization from auction data, live skin grading and grading of the skins prepared for auction. We found a heritability for all traits, indication that genetic progress is possible for all traits. In general, heritabilities were lowest for auction data traits, where data were grouped in relative few categories, followed by traits

graded on skin and live grading traits. We found a high positive genetic correlation between skin size and price. We also found a positive genetic correlation between price and quality after correcting for skin size. We concluded, that it is possible to increase genetic progress by including auction data records from relatives as a supplement to live grading of potential breeding animals, but more detailed registrations for size and quality are preferred over the present few categories for each auction trait.

Villumsen, T. Lund, M.S. 2019. Use of auction data registrations in the genetic evaluation of mink. Annual Report 2018, 8-15. Copenhagen Research, Agro Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Keywords (en): Auction data, heritability, genetic correlation, Neovison Vison

Indledning

I minkavlen er vi interesserede i at udvælge dyr til avl, der blandt andet kan give fremgang for kvalitet og størrelse på skind klargjort til auktion, idet disse parametre i overvejende grad er bestemmende for den pris, skindet opnår på auktion. Idet oplysningerne ikke er tilgængelige for de potentielle avlsdyr ved udvælgelsen i efteråret, anvender vi i stedet vægt og kvalitet ved livdyrvurderingen som indikatorregenskaber. For beslægtede individer vil der være auktionsdata til rådighed, men idet mink som udgangspunkt gruppeavlives, tabes forbindelsen mellem livdyrvurdering og auktionsdata, og derfor er det uklart, i hvor høj grad der er overensstemmelse mellem egenskaber vurderet på livdyr og ved opsortering til auktion.

På Foulums forsøgsfarm er aflivning af brune mink i perioden 2013-2016 foregået som enkeltdyrsaflivning, og vi har registreringer af minkene fra fødsel til auktion. Afstamning er kendt, og alle dyr er livdyrvurderet i november af bedømmer fra København Fur. Efter pelsning er der foretaget en skindvurdering af skind klargjort til auktion, ligeledes af erfarne bedømmere fra København Fur. Til sidst er skind opsorteret til auktion i den normale proces, og efterfølgende solgt. Disse data er ideelle til at undersøge, i hvor høj grad de indikatorregenskaber der

anvendes som grundlag for udvælgelsen af mink til avl, afspejles i auktionsresultaterne.

Formålet med dette projekt var at undersøge arvbarhed for vægt, størrelse, kvalitetsmål og pris samt undersøge i hvor høj grad der var sammenhæng (korrelation) mellem de egenskaber, der måles på livdyr, skind klargjort til auktion, samt auktionsdata.

Materiale og metoder

Dyr og egenskaber

Datagrundlaget i denne undersøgelse stammer fra Foulums forsøgsfarm, hvor der i årene 2013-2016 blev foretaget individuel aflivning af brune mink i forbindelse med projektet genomisk selektion. Der blev både foretaget livdyr- og skindvurderinger, og desuden er individuelle auktionsdata tilgængelige. Tabel 1 angiver fordelingen af brune mink baseret på fødselsår. Ikke alle mink havde registreringer for alle egenskaber. I de genetiske analyser blev anvendt en afstammingsfil indeholdende 21.424 mink

TABEL 1 ANTAL MINK FORDELT PÅ FØDELSÅR.

ÅR	ANTAL
2013	4.450
2014	4.391
2015	4.420
2016	3.929
I alt	17.190

Tabel 2 viser hvilke registreringer fra henholdsvis livdyr-vurdering, skindvurdering og fra auktionsdata der indgik i analyserne.

TABEL 2 EGENSKABER VED LIVDYRVURDERING, SKINDVURDERING OG AUKTION.

EGENSKAB	LIVDYR	SKIND	AUKTION
Vægt	X		
Skindlængde		X	X
Pris			X
Kvalitet	X	X	X

Fra livdyrvurderingen indgik vægt i gram som en indikatoregenskab for skindlængde, vægt blev vurderet i november i uge 45-46 i alle årene. Skindstørrelse blev målt i cm ved skindvurderingen, mens den i auktionskategoriseringen blev delt op i klasser af 6 cm.

Kvalitet blev registreret forskelligt for livdyr, skind og auktion. For livdyr blev kvalitet angivet på en skala fra 1 til 5, hvor 5 var bedst. Ved skindvurdering blev kvalitet angivet på en skala fra 1-12, hvor 12 var bedst. For auktionsdata blev kvalitet angivet i navngivne kategorier, der blev omsat til en skala fra 0-10, hvor 10 var bedst og svarede til

Purple. 5 og 7 var forbeholdt skind med chip, mens 0 til 3 var forbeholdt breedere, lowgrades og sommerskind. Inddelingen i auktionskvalitet var således ikke lineær. Fx blev et skind der reelt havde kvalitet til Purple (10) kategoriseres som Qual IA (7) hvis der var en chip, uanset at denne fejl fx skyldtes en dårlig pelsning. Ligeledes fik breedere skind automatisk en dårlig kategorisering. Inddelingen af skind med chip og breedere, lowgrades og sommerskind var desuden mindre detaljeret end for regulære skind. Som konsekvens heraf valgte vi kun at anvende regulære skind fra auktionsdata i analyserne, dvs. ingen skind med chip, skind fra avlsdyr eller lowgrades og sommerskind. De regulære skind udgjorde 68 % af alle skind og Tabel 3 illustrerer opdelingen af skind i auktionskategorier.

TABEL 3 OVERSIGT OVER KVALITETSINDELING FOR AUKTIONSSKIND, SAMT ANDELEN AF SKIND I HVER KATEGORI.

REGULÆRE SKIND	SKIND MED CHIP (FEJL)	BREEDERS, LOWGRADES OG SOMMERSKIND
Purple (10) Platinum (9) Burgundy (8)	Qual IA (7)	A (3)
Ivory (6) Qual II (4)	Qual I (5)	B (2) Qual III (1) Qual V (0)
68 %	22 %	10 %

I auktionsdata var prisen angivet i kr. for auktionsskind. Da skind sælges på verdensmarkedet, og er underlagt en svingende kurs på US\$, blev prisen omregnet til US\$, på baggrund af de vekselkurser der blev anvendt for de enkelte auktioner. Ligesom for auktionskvalitet blev der kun anvendt priser for regulære skind i analyserne.

Statistiske modeller

Data blev analyseret i bivariate modeller, hvor hver kombination af to egenskaber blev analyseret sammen. Analyserne blev foretaget ved hjælp af REstricted Maximum Likelihood (REML) i programmet DMU (Madsen et al, 2014). For alle egenskaber blev der korrigeret for de systematiske effekter af køn, fødselsår og hal efter udsætning i par. Pris blev også korrigeret for salgsauktion. Den tilfældige effekt af opvækst i samme kuld, samt den genetiske effekt af dyr indgik ligeledes i modellen.

For de bivariate analyser af pris og kvalitet blev der yderligere kørt analyser, hvor der blev korrigeret for længden af skind. Disse resultater bliver præsenteret i en separat tabel.

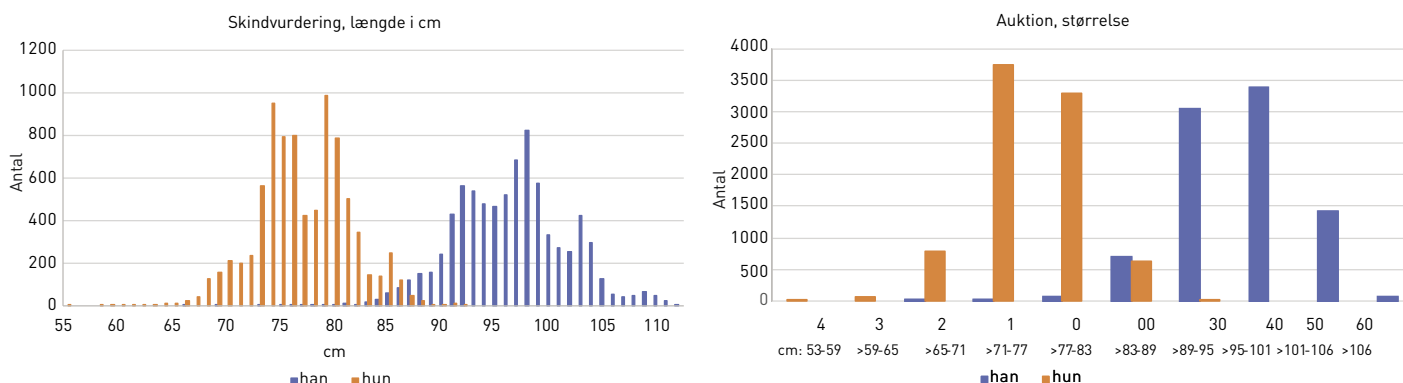
Idet data blev analyseret i bivariate modeller, er arvbarheder (h^2) estimeret flere gange, og h^2 er angivet som et gennemsnit af estimerterne. De genetiske korrelationer er angivet med en tilhørende standard error (SE) der er et udtryk for den statistiske usikkerhed på estimerterne. 95 % konfidensintervallet, som er et udtryk for det interval hvor den sande værdi med 95 % sandsynlighed befinder sig, er estimeret $\pm 2SE$.

Resultater

Rådata

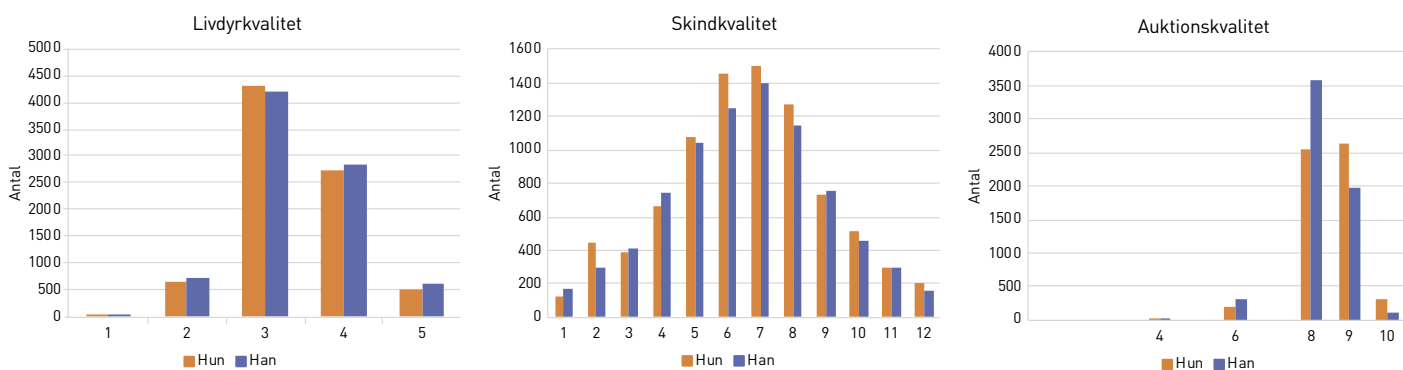
I skindvurderingen blev størrelse målt i cm, mens størrelse ved auktion blev inddelt i kategorier af 6 cm. Som

det fremgår af Figur 1, er kategoriseringen mindre detaljeret for auktionsstørrelse, ligesom det også fremgår at hunner er betydelig mindre end hanner, og der er kun begrænset overlap i størrelse.



FIGUR 1 SKINDSTØRRELSE FOR HAN- OG HUNMINK FRA HHV. SKINDVURDERING OG KLASSIFIKATION AF AUKTIONSSKIND.

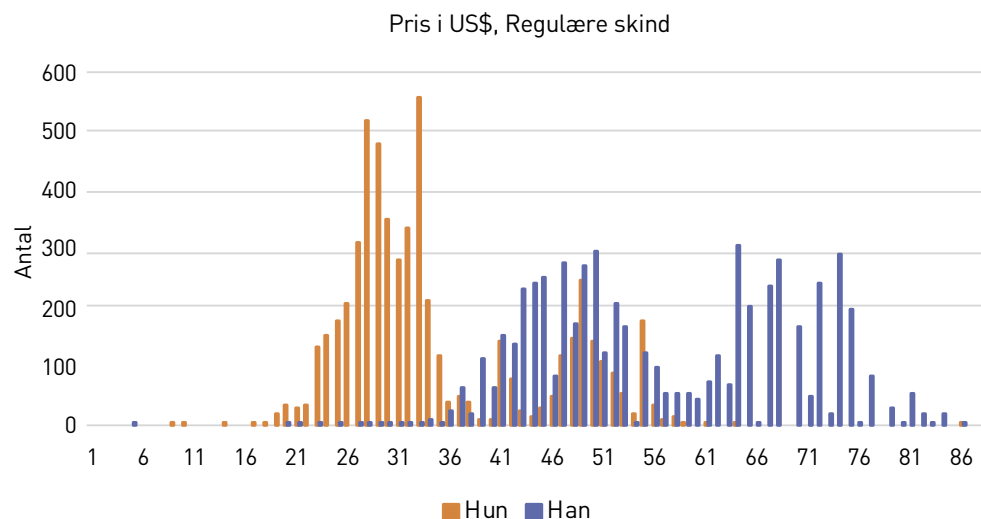
Figur 2 illustrerer fordelingen af han- og hunskind på kvalitetskategorierne vurderet på henholdsvis livdyr, skind og auktionskategori. I analyser af kvalitet for auktionsdata indgik kun regulære skind.



FIGUR 2 KVALITET FOR HAN- OG HUNMINK VED LIVDYRVURDERING, SKINDVURDERING OG OPSORTERING TIL AUKTION.

Figur 3 viser, hvorledes regulære han- og hunskind fordeles sig på auktionspris for mink født i årene 2013-2016. Af figuren fremgår at skindene fordeles sig i to "toppe" for

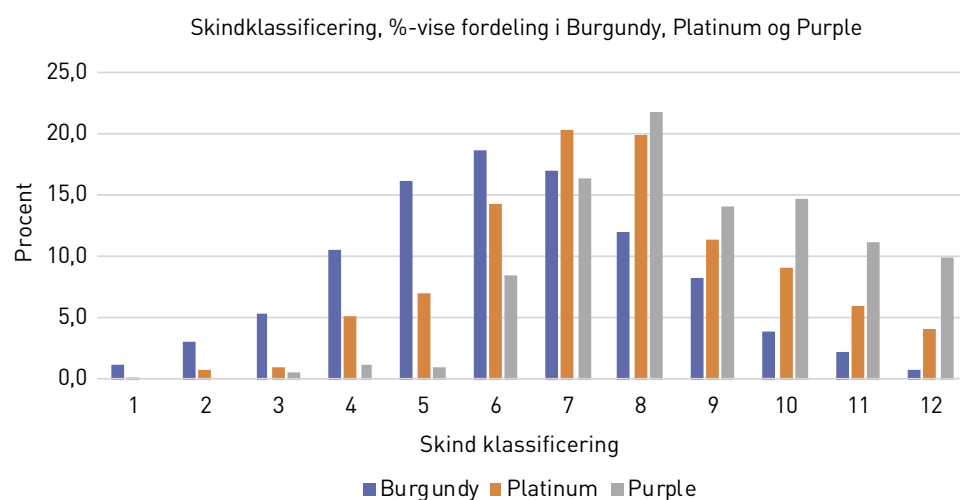
både hanner og hunner, i figuren skelnes ikke mellem priser i de forskellige år, men generelt var priserne i 2013 betydelig højere end priserne i 2014-2016.



FIGUR 3 PRIS I US\$ FOR REGULÆRE SKIND FRA HAN- OG HUNMINK FØDT I ÅRENE 2013-2016.

Figur 4 viser hvordan skind der blev opsorteret i auktionskategorierne Purple (388 skind), Platinum (4471 skind) og Burgundy (5858 skind) relativt set var fordelt tilbage ved klassificeringen af skindkvalitet. Som eksempel indgik der i auktionskategorien Purple 55 skind der havde fået

klassificeringen 9 tilbage ved skindsorteringen, svarende til 14 % af skind i kategorien Purple. De tilsvarende tal for Platinum er 514 skind svarende til 12 % og for Burgundy 486 skind svarende til 8 % med karakteren 9 fra skindsorteringen.



FIGUR 4 PROCENTVISE FORDELING TILBAGE FRA SKINDKLASSIFICERING FOR SKIND I AUKTIONSKATEGORIERNE BURGUNDY, PLATINUM OG PURPLE.

Arvbarheder

Arvbarhederne blev estimeret flere gange for hver egenskab, og er angivet som gennemsnit fra de forskellige modeller, hvor den pågældende egenskab indgår. Tabel 4. viser de estimerede arvbarheder for størrelse, vægt, pris og kvalitet. Antallet af observationer varierede mellem egenskaberne. For pris og auktionskvalitet var antallet af observationer lavere end for de øvrige egenskaber, hvilket skyldes at kun regulære skind indgik i analyserne. Arvbarhederne varierede i intervallet 0,11 til 0,46, lavest for auktionskvalitet og højest for vægt.

Korrelationer

Tabel 5 viser de genetiske og fænotypiske korrelationer for egenskaberne. De fænotypiske korrelationer fremkom ved korrelation direkte på de givne karakterer. Ved estimering af genetiske korrelationer indgår afstamningsinformation i analyserne og der er korrigeret for systematiske effekter som nævnt i afsnittet "Statistiske modeller".

TABEL 4 ANTAL OBSERVATIONER OG ARVBARHEDER (h²) FOR STØRRELSE, VÆGT, PRIS OG KVALITET.

EGENSKAB	ANTAL OBS	h²
Størrelse, Auktion	17.183	0,39
Størrelse, Skind	16.553	0,44
Vægt	16.553	0,46
Pris	11.673	0,19
Kvalitet, Auktion	11.673	0,11
Kvalitet, Skind	16.606	0,25
Kvalitet, Livdyr	16.525	0,31

TABEL 5 FÆNOTYPISE KORRELATIONER (OVER DIAGONAL) OG GENETISKE KORRELATIONER (UNDER DIAGONAL) FOR STØRRELSE, VÆGT, PRIS OG KVALITET, SE FOR DE GENETISKE KORRELATIONER ER ANGIVET I PARENTES.

KORRELATIONER	STØRRELSE AUKTION	STØRRELSE SKIND	VÆGT LIVDYR	PRIS AUKTION	KVALITET AUKTION	KVALITET SKIND	KVALITET LIVDYR
Størrelse, Auktion	-	0,99	0,93	0,78	-0,18	-0,12	-0,01
Størrelse, Skind	0,999 (0,001)	-	0,95	0,77	-0,19	-0,13	-0,02
Vægt, Livdyr	0,87 (0,01)	0,88 (0,01)	-	0,76	-0,19	-0,13	0,03
Pris, Auktion	0,89 (0,02)	0,89 (0,02)	0,77 (0,03)	-	-0,07	0,00	0,07
Kvalitet, Auktion	-0,55 (0,07)	-0,53 (0,07)	-0,58 (0,07)	-0,40 (0,11)	-	0,41	0,11
Kvalitet, Skind	-0,53 (0,05)	-0,54 (0,04)	-0,46 (0,05)	-0,27 (0,08)	0,87 (0,04)	-	0,19
Kvalitet, Livdyr	-0,11 (0,05)	-0,11 (0,05)	-0,01 (0,05)	0,28 (0,11)	0,43 (0,07)	0,52 (0,04)	-

De fænotypiske korrelationer mellem størrelsesmål, vægt og pris var positive og høje (0,76 til 0,99). De fænotypiske korrelationer mellem hhv. størrelse/vægt og kvalitet varierede fra svag negativ til uafhængig (-0,19 til 0,03). Den fænotypiske korrelation mellem pris og kvalitet var tæt på 0 (-0,07 til 0,07), mens de fænotypiske korrelationer mellem kvalitetsmålene var svag til moderat positive (0,11 til 0,41).

De genetiske korrelationer mellem størrelsesmål, vægt og pris var også høje og positive (0,77 til 0,999). De genetiske korrelationer mellem størrelse/vægt og kvalitet var uafhængige til moderat negative (-0,01 til -0,58). De genetiske korrelationer mellem pris og kvalitet varierede fra moderat negativ til moderat positive (-0,40 til 0,28), mens den genetiske korrelation mellem kvalitetsmålene var moderat til høj positive (0,43 til 0,87).

Tabel 6 viser de genetiske korrelationer mellem pris og kvalitetsmålene når effekten af skindstørrelse er korregeret ud ved hjælp af en regressionsanalyse.

TABEL 6 GENETISKE KORRELATIONER MELLEM PRIS OG KVALITETSMÅL EFTER KORREKTION FOR SKINDSTØRRELSE, SE ER ANGIVET I PARENTES.

KORRELATIONER	PRIS, AUKTION
Kvalitet, Auktion	0,44 (0,10)
Kvalitet, Skind	0,54 (0,07)
Kvalitet, Livdyr	0,83 (0,05)

Efter korrektion for skindlængde er de genetiske korrelationer mellem pris og kvalitet moderat til meget positive (0,44 til 0,83).

Diskussion

Rådata

Figur 1 og 3 illustrerer, at hunner som forventet er betydelig mindre end hanner, hvilket også afspejler sig i auktionspriserne, idet hanskind afregnes til højere priser end hunskind. Figur 2 illustrerer, at der overordnet er en meget lige fordeling af han- og hunskind i de forskellige kvalitetskategorier, dog er der en tendens til en lille overvægt af hunskind i de bedste kategorier af auktionsdata.

Figur 4 illustrerer sammenhængen mellem skind- og auktionskvalitet, for de skind der blev opsortet i auktionskategorierne Purple, Platinum og Burgundy, de tre bedste auktionskategorier. Det fremgår af figur 4, at der i alle tre auktionskategorier var skind fra et bredt spektrum af skindklassificeringens klasser, dog med en tendens til, at der var en relativ større andel af skind med høj karakter fra skindvurderingen, der havnede i den højeste auktionskategori Purple. Kategorierne var dog ikke så klart opdelte, som vi havde forventet. Med udgangspunkt i, at klassificeringen 12 kun gives til de absolut bedste kvalitetsskind ved skindvurderingen (i dette studie 2,5 % af de regulære skind), havde vi en forventning om, at nærmest alle skind med klassificeringen 12 også ville have i auktionskategorien Purple. Dette var dog ikke tilfældet, idet kun 14 % af de regulære skind med klassificeringen 12 havnede i auktionskategorien Purple mens hhv. 66 % og 19 % af skindene med klassificeringen 12 havnede i auktionskategorierne Platinum og Burgundy. At den højeste klassificering på skindkvalitet ikke nærmest automatisk medfører indplacering i højeste auktionskategori synes bekymrende og bør lede til overvejelser om, hvordan man definerer et skinds kvalitet, når to vurderinger på skind klargjorte til auktion ender forskelligt for en stor andel af skindene.

Arvbarhed

Alle de undersøgte egenskaber havde en arvbarhed større end 0, hvilket indikerer, at det er muligt at forbedre egenskaberne gennem avl. Jo større arvbarhed, jo større en andel af den varians vi observerer kan henføres til gener, og jo lettere er det at opnå avlsfremgang for en egenskab.

Af tabel 4 fremgår at vægt havde den højeste arvbarhed (0,46), efterfulgt af størrelse i skindvurderingen (0,44) og størrelse af auktionsskind (0,39). Størrelse er et objektivi mål, og undersøgelser viste, at der var meget høj overensstemmelse mellem mål i cm ved skindvurderingen og kategori i auktionssorteringen. Når størrelse ved skindmålingen resulterede i en højere arvbarhed end auktionsopmålingen, skyldtes det, at længde ved skindopmålingen blev registreret i cm, mens auktionsopmålingen var inddelet i klasser af 6 cm. Den større præcision ved skindopmålingen resulterede i højere arvbarhed. Arvbarheden af vægt og skindstørrelse var i samme størrelsesorden som fundet i tidligere resultater af Thistrup et al. (2017).

Pris påvirkes af mange udefra kommende faktorer, og er en "pesudoegenskab" sammenlignet med de øvrige egenskaber. Vi analyserede pris på lige fod med de øvrige egenskaber, for at undersøge arvbarheden og de genetiske korrelationer til øvrige egenskaber. For pris var arvbarheden 0,19, en relativ lav arvbarhed, hvilket indikerer at i forbindelse med en avlsværdivurdering, vil det være hensigtsmæssigt også at anvende en egenskab med højere arvbarhed, og som samtidig har en høj genetisk korrelation til pris.

Der var store forskelle i arvbarheden af kvalitet, afhængig af om den var målt på livdyr, skind eller kategori ved opsortering til auktion. Arvbarhed for livdyrkvalitet var højest, efterfulgt af skindkvalitet, hhv. 0,31 og 0,25, dette var i samme størrelsesorden som fundet af Thistrup et al. (2017). Kvalitet ved auktion havde en lav arvbarhed på 0,11, hvilket indikerer, at der var en lavere detaljeringsgrad ved opsorteringen i bundter, og auktionskvalitet er ikke så entydigt defineret, som det var tilfældet ved sortering af livdyr og skind

Korrelationer

De fænotypiske og genetiske korrelationer fremgår af tabel 5. I de fænotypiske korrelationer indgår både genetisk og miljø, men i de genetiske analyser "skilles tingene ad" og det bliver synliggjort i hvor stort omfang egenskaber påvirker hinanden på grund af genetik.

Størrelse ved skindvurdering og ved auktion var genetisk meget højt korreleret ($>0,99$), hvilket indikerede at der var tale om samme egenskab. I tilfælde af en avlsværdivurdering vil størrelse i cm frem for 6-cm intervaller være at foretrække, idet dette resulterede i en højere arvbarhed (tabel 4). Den fænotypiske korrelation var ligeledes høj (0,99). Der var høje fænotypiske korrelationer mellem størrelse og vægt ($>0,9$), de genetiske korrelationer mellem størrelse og vægt var også høje (0,87-0,88), hvilket indikerede at udvælgelse af avlsdyr efter vægt, som ventet resulterer i lange skind, dvs. vægt er en god indikatoregenskab for skindlængde. Den høje genetiske korrelation svarer til, at 75 % af variationen i længde blev forklaret af vægt, de resterende 25 % gjorde ikke. Der er således stadig potentiale i, at forsøge at finde frem til en indikatoregenskab der bedre beskriver skindlængde, og gerne uden den negative sideeffekt der er ved at udvælge de tungeste mink til avl, idet man derved også til en vis grad udvælger de fedeste mink (Nielsen et al., 2012).

De genetiske korrelationer mellem pris og hhv. skind- og auktionsstørrelse på 0,89 indikerede, at størrelse var den vigtigste parameter i forhold til auktionspris på skindet. De genetiske korrelationer mellem kvalitet ved livdyr og hhv. skind og auktion (0,52 og 0,43) indikerede, at kvalitet som livdyr ikke er et udtryk for samme egenskab som kvalitet registreret på skind og ved auktionsopsortering. Der var en højere genetisk korrelation mellem kvalitet på skind og auktion (0,87).

De positive genetiske korrelationerne viser, at der principielt kan opnås en genetisk fremgang for auktionskvalitet, når der inddrages auktionsdata for kvalitet fra beslægtede individer i en avlsværdivurdering, men der er lav detaljeringsgrad for kvalitet i forbindelse med opsortering i bundter, og den nuværende information fra auktionsklassificering vil derfor ikke være særlig velegnet til formålet. De lave genetiske korrelation mellem livdyr- samt skind- og auktionskvalitet er bekymrende, idet dyr til dels bliver udvalgt til avl på baggrund af kvalitetsmål som livdyr, som langt fra er udtryk for samme egenskab ved auktionsklassifikationen. Der bør laves en undersøgelse af, hvad der er definerende for en høj kvalitet på henholdsvis livdyr, skind og auktion klassificering, for at forsøge at indkredse hvori forskellene består. En sådan undersøgelse kan medvirke til at opnå en større forståelse for, hvad kvalitet er for en egenskab, hvilke delegenskaber der indvirker på kvalitet, og dermed hvad der mere præcist skal avles efter og udvælges avlsdyr efter, for at opnå en højere auktionsklassificering der kan give en merværdi for minkavlerne.

De genetiske korrelationer mellem størrelse/vægt og kvalitet var alle negative, specielt for auktion- og skindkvalitet var der høje negative korrelationer til størrelse og vægt (omkring -0,5), dvs. jo større skind, jo ringere kvalitetsvurdering blev opnået. De genetiske korrelationer mellem størrelse/vægt og livdyrkvalitet var mindre negative og tæt på uafhængige, hhv. -0,11 og -0,01, de fænotypiske korrelationer var også tæt på 0. De genetiske korrelationer mellem vægt, skindstørrelse, og kvalitet er af samme størrelsesorden som tidligere fundet i Thistrup et al. (2017). Når der vurderes kvalitet og vægt på livdyr, så observeres hverken fænotypisk eller genetisk en stor negativ korrelation. Den præcise årsag til den høje nega-

tive genetiske korrelation mellem størrelse og auktion- og skindkvalitet er ukendt, men en teori kunne være, at kvalitet påvirkes af skindets evne til at strække sig, og jo mere et skind kan strækkes, jo dårligere kvalitetsvurdering opnår skindet. Strækkeevne indgår ikke i vores undersøgelser, men i et studie af de Rond (2017) blev der på baggrund af kuldobservationer fundet, at kuld efter nogle hanner havde lavere strækkeevne end kuld efter andre hanner, hvilket indikerede at der er en genetisk komponent i strækkeevne, som der i dag ikke tages højde for, i udvælgelsen af avlsdyr. En anden faktor der har betydning for opfattelsen af kvalitet, kan være at der er forskel på, hvordan kvalitet vurderes når et skind stadig er på den runde mink, og når der er tale om vurdering på et fladt skind.

Vi fandt en negativ genetisk korrelation mellem pris og auktion- samt skindkvalitet, hhv. -0,40 og -0,27. Dette er ikke et udtryk for, at dårlig kvalitet i sig selv medførte en højere pris, men er derimod et udtryk for, at pris i meget høj grad var styret af størrelse på skindet, den negative korrelation mellem størrelse og kvalitet af skindet er tidligere beskrevet. For at tydeliggøre at kvalitet i sig selv ikke var negativt korreleret med pris, udførte vi ekstra bivariate analyser for pris og kvalitet, hvor der blev korigeret for længde af skind (Tabel 6). Efter korrektion for skindlængde var den genetiske korrelation mellem pris og auktionskvalitet 0,44, og mellem pris og skindkvalitet 0,54. Før korrektion for skindlængde fandt vi en positiv genetisk korrelation mellem pris og livdyrkvalitet på 0,28, efter korrektion for skindlængde steg denne korrelation til 0,84. Den høje genetiske korrelation mellem livdyrkvalitet og pris efter korrektion for skindlængde, understreger at en kvalitetsvurdering ved udvælgelse af avlsdyr er vigtig, idet der alt andet lige vil opnås højere pris på et langt skind af god kvalitet, frem for et langt skind af ringere kvalitet. En årsag til at den stærkeste genetiske sammenhæng mellem kvalitet og pris ses for livdyrkvalitet kan være, at der er en tendens til i livdyrvurderingen, at der er en sammenhæng mellem kvalitet og velvet-grad, således at en relativt større andel af dyrene med livdyrkvalitet 5 er Velvet 2, 48 %, mod kun 29 % med en livdyrkvalitet på 3. I auktionsdata bedømmes velvet-grad indenfor auktionskategori, og for både Purple, Platinum og Burgundy er der ca 35 % skind med Velvet 2 vurdering.

Konklusion

Vi estimerede arvbarheder for egenskaber registreret ved livdyrvurdering, skindvurdering og opsortering til auktion. Vi fandt arvbarheder >0 for alle egenskaber, hvilket indikerede at der kan opnås genetisk fremgang for alle egenskaber ved inkludering i et avlsprogram. De laveste arvbarheder blev estimeret for auktionsdata, mens de generelt var højere for skindvurderingsdata, og højest for egenskaber målt på livdyr. Da auktionsdata og skindvurderingsdata baserer sig på samme produkt, er de lavere arvbarheder for auktionsdata et udtryk for, at der var en meget lav detaljeringsgrad i auktionsdata. Vi fandt en høj positiv genetisk korrelation mellem vægt og skind- og auktionsstørrelse, dvs. som forventet får man store skind når man udvælger avlsdyr efter vægt. Der var dog stadig 25 % af den genetiske variation i størrelse, der ikke blev beskrevet af vægt. De genetiske korrelationer viste som ventet, at der var en meget høj positiv korrelation mel-

lem størrelse og pris. Når der blev korrigeret for skindlængde, var der ligeledes moderate til høje korrelationer mellem kvalitet og pris.

Auktionsdata vil aldrig skulle stå alene i avlsværdiurderingen af størrelse og kvalitet på slutproduktet skind. Det vil altid være en fordel at anvende resultater fra livdyrvurderingen på de dyr der står overfor selektion, af den indlysende grund, at auktionsdata stammer fra døde dyr. Med gode registreringer for egenskaber med høje genetiske korrelationer mellem livdyregenskaber og auktionsdata vil man kunne opnå en højere genetisk fremgang for størrelse og kvalitet og dermed pris, hvis registreringer baseret på skind fra beslægtede individer blev inddraget i avlsværdiurderingen i multivariate analyser, som supplement til livdyrregistreringerne. Ved at analysere egenskaberne sammen, kan de genetiske korrelationer mellem egenskaberne udnyttes til at opnå mere sikre avlsværdier.

De nuværende auktionsdata, specielt for kvalitet, viste sig ikke at være særlig velegnede til at forbedre avlsværdiurderingen. Der er alt for store forskelle i, hvad der bliver opfattet som høj kvalitet på livdyr, skindvurdering og auktionsklassificering. For at forbedre avl efter høj kvalitet er det vigtigt at få ensrettet billedet af, hvad kvalitet er for en egenskab, og hvordan et skind der får høj auktionsklassificering ser ud på et livdyr, så udvælgelsen af avlsdyr sker på baggrund af skindparametre, der vægtes højt i auktionsklassificeringen. Objektive målinger af skindparametre kunne være en genvej til at opnå en større gennemsigthed i, hvad der kendetegner et auktionsskind af høj kvalitet, og hvordan disse parametre relateres tilbage til livdyrvurderingen og udvælgelsen af avlsdyr.

Anerkendelser

Dette projekt er finansieret af Pelsdyragiftsfonden og Århus Universitet.

Referencer

De Rond, J. 2017. Stretchability of mink skin appears to be genetic correlated. Summary. NJF Seminar 498, NJF's subsection for fur animals, 18.-20. October, Oslo, Norway.

Madsen, P., Jensen, J., Labourian, R., Christensen, O.F. & Sahana, G. 2014. DMU –A package for Analyzing Multivariate Mixed Models in quantitative Genetics and Genomics. 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, CA.

Nielsen, V.H., Møller, S.H., Hansen, B.K. & Berg, P. 2012. Genetic parameters and effect of selection for body weight in lines of mink (*Neovison vison*) on ad libitum and restricted feeding. Acta Agriculturae Scandinavica, Sec. A. Animal Science, Volume 62, 24-28.

Thirstrup, J., Jensen, J. & Lund, M.S. 2017. Genetic parameters for fur quality graded on live animals and dried pelts of American mink (*Neovison vison*). Journal of Animal Breeding and Genetics, Volume 134, 322-331. ✕

PLEJEHVALPE ACCEPTERES HURTIGERE OG OPNÅR EN BEDRE TILVÆKST VED TIDLIG FLYTNING

Af Jens Malmkvist,

Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Allé 20, 8830 Tjele.

Sammendrag

Der findes kun få undersøgelser af, hvordan flytning af minkhvalpe og kuldudjævning foregår bedst. Derfor blev der i 2018 igangsat et flerårigt projekt – støttet af pelsdyrafgiftsfonden – om flytning af minkhvalpe i den tidlige periode efter fødsel. I 2018 blev 408 hvalpe fra store kuld (9-14 unger) flyttet til 408 plejemødre (4-7 unger), enten dag 2 eller dag 6 efter fødslen. Udover flytningstidspunktet, blev betydning af tævens erfaring undersøgt, dvs. om plejemor var ung (førsteårs) eller ældre (anden-/tredje-årstæve). Minkmødre hentede ukendt hvalp hurtigere ind i redekassen dag 2 end dag 6. Hvalpenes tilvækst var bedre ved flytning dag 2 fremfor ved dag 6 efter fødsel. Førsteårs- og ældre tæver viste samme grad af accept af plejehvalp, men hvalpenes tilvækst frem til 8 uger var størst i kuld passet af de erfarne tæver. Den tidlige flytning (dag 2 eller 6) sænkede ikke hvalpenes risiko for at dø. Såfremt man flytter hvalpe anbefales det at flytte hvalpe tidligt (de første dage) efter fødsel, og om muligt vælge ældre fremfor førsteårstæver som modtagere af plejehvalpe.

Malmkvist, J. 2019. Plejehvalpe accepteres hurtigere og opnår en bedre tilvækst ved tidlig flytning.

Faglig Årsberetning 2018, 16-21 København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Abstract

Only few investigations have focussed on the optimal procedures and timing for the transfer of mink kits between litters. Therefore, a research project was initiated in 2018 – supported by the Danish Pelt Levy foundation – on transfer early after birth. In total 406 kits from large (9-14 kits) litters were transferred to 406 foster mother (4-7 kit) litters either day 2 or day 6 after birth. Besides the timing of transfer, also the dam experience was investigated, i.e. whether the dam was young (1st year) or older (2nd/3rd year). Mink dams fetched the unfamiliar kit quicker into the nest box day 2 than day 6 after birth. The offspring growth was higher following day 2 than day 6 transfer. The degree of maternal acceptance was equal between young and older dams; however, the growth of kits until 8 weeks was higher in the litters nursed by the older experienced foster dams. The early transfer (day 2 or 6) did not reduce

the risk of kit mortality. In conclusion, it is recommended to move kits early (the first postnatal days) after birth, and select older rather than young dams as receiver of foster kits.

Malmkvist, J. 2019. Foster kits are accepted quicker and obtain a higher growth following transfer day 2 than day 6 after birth. Annual Report 2018, 16-21. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Cross-fostering, growth, maternal behaviour, mortality, Neovison vison

Introduktion

Generelt foregår flytning af minkhvalpe i to perioder: (1) tidligt, dag 1-10 efter fødsel, og igen (2) 6.-8. uge efter fødsel. Hertil kan det blive nødvendigt at gribe ind, hvis en tæve ikke kan passe hvalpene i løbet af diegivningsperioden, bliver syg, eller der opstår slagsmål mellem hvalpene, hvilket særligt optræder hen mod slutningen af diegivningsperioden (f.eks. Clausen, 2010). Minkavlerens strategi med flytning af hvalpe den første uge kan påvirke resten af diegivningsperioden. Derfor omhandler nærværende projekt flytning af hvalpe i den tidlige periode, og dyrene følges i hele diegivningsperioden.

Den første mulige gevinst ved at flytte hvalpe tidligt handler om øget **overlevelse** for hvalpe. Den væsentlig del af dødeligheden sker på fødedagen og inden for de første få dage efter fødsel (Martino and Villar, 1990; Schneider and Hunter, 1993; Malmkvist et al., 2007; Malmkvist & Palme, 2008, 2015). Hovedparten af disse hvalpe er levendefødte (jf. Tabel 1), og flere kunne formentlig overleve med god pasning. For at høste overlevelsesevinsten vil en strategi for avlerne være at flytte tidlig, typisk de første dage efter fødsel, fremfor at vente til senere (f.eks. efter dag 3). Flytning kan dog også indebære en risiko for overlevelsen (jf. Skovgaard, 1998).

TABEL 1 EN HØJ ANDEL (83 – 98%) AF MINKHVALPE ER LEVENDE VED FØDSEL. GENNEMSIT ANTAL HVALPE PER KULD ER BASERET PÅ FLERE ÅRS FORSØG PÅ FORSKNINGSCENTER FOULUMS FORSØGSFARM MED REGISTRERING AF FØDSELSTIDSPUNKT OG BESTEMMELSE AF LEVENDEFØDTE BASERET PÅ OBDUKTION AF ALLE DØDE HVALPE. FOR YDERLIGERE INFORMATIONER OM FORSØG OG RESULTATER HENVISES TIL KILDE ARTIKLER.

FOKUS	ANTAL HVALPE DAG 0-1	DØDFØDTE (HAR IKKE TRUKKET VEJRET)	ANDEL LEVENDE-FØDTE AF KULDET DAG 0-1, %	KILDE
Video af fødsler (udvalg)	8,0	0,2-0,4	95,0-97,5	Malmkvist et al., 2007
Redebygnings-mulighed	7,9-8,4	1,3-1,8	83,3-84,8	Malmkvist & Palme, 2008
Tidspunkt flytning af tæver	8,7-9,3	0,2-0,7	92,2-94,4	Malmkvist & Palme, 2015
Redens temperatur	8,5	0,9	89,4	Schou & Malmkvist, 2017
Flytning af hvalpe	8,2	0,6	93,0	Nærværende projekt, 2018

En anden gevinst ved systematisk at flytte hvalpe er kuldudjævning. Fordele ved **kuldudjævning** kan være: (a) tæven har det antal unger, hun uden problemer kan passe/give mælk til i løbet af den resterende del af diegivningsperioden, (b) konkurrence mellem unger om ressourcer og risikoen for sår og skader sænkes for de store kuld, (c) tilvækst optimeres i gennemsnit samt (d) tilsyn og styring af fodring med videre bliver lettere i resten af diegivningsperioden med ensartede kuld.

Disse fordele optræder i stigende grad, som diegivningsperioden skrider frem. Fordelene ved sen flytning (efter dag 3) forventes at være minimale for den tidlige overlevelse/tilvækst. Der er intet, som tyder på, at tævens mælk samt antallet af hvalpe er begrænsende for hvalpenes tidlige tilvækst (Schou & Malmkvist, 2017). Stadig er hvalpens trivsel den første uge afgørende, idet en lav hvalpewægt dag 1 og dag 7 kan slå igennem hele vejen frem til fravæning. Det er uvist, om en tidlig håndtering hæmmer den tidlige tilvækst.

En ulempe ved kuldudjævning er (a) at man griber ind i tævens og kuldets naturlige yngelpleje/samspil. Selvom tæven er modtagelig for unger, kan hun skelne egne fra fremmede unger få dage efter fødslen (Malmkvist, 2018). En mindre undersøgelse fandt flere ihjelbidte blandt plejehvalpe i forhold til egne hvalpe ved flytning til anden farvetype (førsteårstæver; Skovgaard, 1998), hvilket ikke kunne bekræftes i en undersøgelse fra KF med flytning inden for samme farvetype (første- og andetårstæver; Clausen & Larsen, 2018) (b) risiko for at foretage flytning til tæve med relativt ukendte moderegenskaber (det vil sige risiko at flytte "gode" hvalpe fra et stort kuld til "dårlig" mor med færre hvalpe), såfremt flytning udelukkende er baseret på hvalpeantal, (c) at flytning kan reducere avlsfremgang, medmindre der gøres en yderligere (arbejdskrævende) indsats for at sikre afstamningsinformationer.

For at udnytte kuldudjævningseffekten bedst muligt er en strategi at flytte efter dag 3, fordi størstedelen af den tidlige hvalpedødelighed da er overstået. Kuldets antal efter dag 3 kan dermed tilpasses, til hvad moderen forventes at

kunne passe/ungernes konkurrence i resten af diegivningsperioden.

Perioden for hvalpenes tidlige råmælsindtagelse er en mindre kritisk faktor hos mink end andre husdyr (Fink et al., 2007). Desuden har mink ikke en synkroniseret diegivning i modsætning til hos for eksempel svin, hvor patteorden og kampe mellem kuldsøskende også er en faktor tidligt efter fødsel. Således kan flytning mellem kuld hos mink godt foregå i et forlænget tidsvindue efter fødsel.

Det vil ofte være nødvendigt at flytte hvalpe fra ældre til førsteårstæver i praksis, og her vil det være værdifuldt med viden om det antal hvalpe (inkl. tilflyttede), som kan passes optimalt, er ens for unge og ældre tæver. Generelt er førsteårstæver mere følsomme, for eksempel hvorvidt redekassen er overdækket eller ej (Malmkvist et al., 2016), og kan have en større risiko for at miste hvalpe. Det forventes, at andetårstæver er bedre plejemødre end førsteårstæver (Clausen & Larsen, 2018). Det er ikke tidligere dokumenteret, at den tidlige flytning redder hvalpe, men tidlig flytning har de samme fordele og ulemper som ved kuldudjævningseffekten (som giver effekt senere i diegivningsperioden). En ulempe ved tidlig flytning (inden for første døgn) er imidlertid, at grundlag for kuldudjævningen vil være mere variabelt. Der kan desuden være en større risiko for at flytte levedygtige hvalpe (f.eks. fra højtydende tæver) til tæver (typisk med lavere kuldstørrelse) med dårligere moderegenskaber. Dermed er der risiko for mistet tilvækst/overlevelse. Der kan mistes flere hvalpe i kuldets, hvis der flyttes to hvalpe til tæven fremfor én (Clausen & Larsen, 2018). Ud over antal hvalpe i kuldets kan der være andre tegn, for eksempel tegn på fødselsproblemer, dødfødte hvalpe, tævens appetit og adfærd, omfang af redebygning, hvalpens størrelse, tævens alder og timingen (dag 1-2, efter dag 3), som kan hjælpe med at vælge den rigtige flytningsstrategi.

I 2018 var fokus på at undersøge effekten af to faktorer ved flytning af minkhvalpe mellem kuld: A) Tidspunkt for flytning af hvalp (dag 2 eller 6 efter fødsel) samt B) Modtagertævens alder (førsteårs- eller anden-/tredjeårstæve).

Materiale og metoder

I undersøgelsen indgik fødselsregistrering af parrede tæver af brun farvetype (N=1271) på AU-Foulums minkfarm. Dag 1 efter fødsel blev kuldet talt. Kuld med 0-3 levende hvalpe eller født efter den 7. maj blev ikke anvendt. De resterende kuld (N=1025) blev kønsbestemt og vejjet per køn. Baseret på antal hvalpe og fødedato blev der dannet tre grupper: 1. Modtager, kuld med 4-7 hvalpe, 2. Afsender, kuld med 9-14 hvalpe, 3. Intakte, kuld med 8-14 hvalpe, som hverken modtager eller afsender hvalpe.

Hver tæve/kuld i modtagergruppen modtog en plejehvalp, som blev chipmærket og vejjet på flytningsdagen. Tabel 2 viser antal af mink fordelt på de to faktorer (tidspunkt for flytning, tævealder) i modtagergruppen.

TABEL 2 ANTAL MINK I MODTAGERGRUPPEN PER FAKTOR, DET VIL SIGE ALDERSGRUPPE AF TÆVER MED 4-7 LEVENDE HVALPE SOM MODTAGER EN EKSTRA HVALP ENTEN DAG 2 ELLER DAG 6 EFTER FØDSEL. DEN FLYTTEDE HVALP STAMMEDE FRA STORE KULD (9-14) FØDT SAMME DAG. DER BLEV FLYTTET 50 % HAN- OG 50 % HUNHVALPE.

MODTAGERTÆVER	FLYTNING EFTER FØDSEL		
	DAG 2	DAG 6	
Unge: førsteårs	111	112	223
Gamle: andet-/tredjeårs	90	95	185
I alt	201	207	408

På flytningsdagen (enten dag 2 eller dag 6 efter fødsel) blev en hvalp fra et afsenderkuld valgt tilfældigt, dog skiftevis han og hun, vejjet og injiceret under huden i nakken med chip til identifikation. Vi flyttede 408 chipmærkede hvalpe til 408 modtagertæver/kuld (Tabel 2). Den flyttede hvalp var født samme dag som modtagerkuldets hvalpe. De flyttede hvalpe stammede fra førsteårstæver (52,9 %) og fra andet-/tredjeårstæver (47,1 %) med 9-14 levende (gennemsnit 10,8) hvalpe.

De to aldersgrupper (unge vs. gamle) af modtagertæver havde samme kuldstørrelse (4-7, gennemsnit 5,9 hvalpe) ved den første tælling. Vi fulgte tæven og kuldet fra

fødsel og indtil flytning af tæven 8 uger (= dag 56) efter fødsel. Enkelte blev adskilt fra kuldet tidligere end otte uge, såfremt dyrenes velfærd var truet på grund af ganske særlige omstændigheder, jf. lov om hold af mink (§24 i BEK nr. 1734, Fødevareministeriet 2006). En tidlig flytning, ekstra tildeling af vand og andre behandlinger blev registreret. Døde mink blev indsamlet og obduceret. Status for døde hvalpe fundet den første uge efter fødsel blev ved brug af lungeflydetest bestemt som dødfødt (ikke trukket vejret) eller levendefødt.

Dataindsamlingen bestod af (1) tævens reaktion på den ukendte hvalp på flytningsdagen, (2) hvalpenes vægte dag 1, 21 og 56 efter fødsel, (3) obduktion af døde hvalpe, (4) forekomst af sår og skader på hvalpe i den 7. levende uge, (5) tævens vægt ved flytning fra kuldet dag 56 efter fødsel.

Ved flytningen blev den chipmærkede hvalp placeret i modtagertævens bur, 30 cm fra åbningen til redekassen, hvor tæven var skoddet inde. Efter fjernelse af skod målte vi varigheden, til at hun rørte og hentede den ukendte hvalp ind i redekassen til resten af kuldet. Såfremt tæven ikke hentede den nye hvalp inden 180 sekunder, placerede observatøren hvalpen i redekassen. Latenstider til at hvalpe blev hentet blev analyseret vha. overlevelsesanalyse som tager hensyn til at ikke alle hvalpe blev hentet af tæven (Allison, 2010).

Resultater

Modtagertævers adfærd over for ukendt hvalp på flytningsdagen

Modtagertæverne reagerede hurtigere og med mere yngelplejeadfærd mod den ukendte hvalp ved den tidlige flytning, det vil sige dag 2 efter fødsel. På dag 2 bar hovedparten (97-99 %) af modtagertæverne den ukendte hvalp ind i redekassen inden for testtiden, hvorimod denne andel var lavere (86-91 %) på dag 6 efter fødsel (Tabel 3). Statistisk analyse viser, at minktæverne rører og henter den ukendte hvalp hurtigere ved flytning dag 2 end ved flytning dag 6 (røre: P=0,028; hente: P<0,001). Derimod reagerede gruppen af unge (førsteårs) og ældre minktæver ikke forskelligt (røre: P=0,63; hente: P=0,77), når de blev præsenteret for en ny hvalp (Tabel 3).

Desuden påvirkede hvalpens vokalisering tiden til modtagertævens røre- og henteadfærd (P=0,006), men i lige

TABEL 3 MODTAGERTÆVENS ADFÆRD OVER FOR NY HVALP PLACERET I BURET. EN DEL AF MINKS YNGELPLEJEADFÆRD ER AT HENTE OG SAMLE HVALPE I REDE. DATA FOR AT RØRE OG HENTE UKENDT HVALP ER ANGIVET SOM MEDIANSEKUNDER FOR DYR, SOM UDFØRTE ADFÆRDEN INDEN FOR DEN MAKSIMALE TESTVARIGHED PÅ 180 SEKUNDER.

FLYTNING	MODTAGER-TÆVE	RØRER HVALP, S	RØRER IKKE, %	HENTET TIL REDEKASSE,	HENTER IKKE, %
Dag 2	Ung	12 a	0	27 a	2,7
Dag 2	Gammel	13 a	1,1	24 a	1,1
Dag 6	Ung	21 b	5,4	49 b	8,9
Dag 6	Gammel	24 b	7,4	56 b	13,7

FORSKELLIGE BOGSTAVER (a, b) INDEN FOR KOLONNER MARKERER SIKKERT FORSKELLIGE VÆRDIER (P<0,05) BASERET PÅ STATISTISK OVERLEVELSESANALYSE, SOM TAGER HØJDE FOR ANDELEN AF IKKE-REAGERENDE DYR.

høj grad for unge som for gamle tæver samt på de to flytningsdage. Ukendte hvalpe, der vokaliserede (65,7 % under testen), blev rørt (median 15 sekunder hurtigere) og hentet ind til rede (median 20 sekunder) hurtigere end hvalpe, som var stille under testen. Flere hvalpe vokaliserede dag 2 (92 %) end dag 6 (43,2 %) efter placeringen i det nye bur ($P<0,001$).

Modtagertævens adfærd over for den ukendte hvalp var ikke ($P>0,10$) påvirket af hvalpens køn, hvalpens kropsvægt (dag 2: gennemsnit 13,7 g, range: 8-21 g; dag 6: gennemsnit 29,8 g, range 16-44 g), modtagertævens kuldstørrelse (4-7), afsendertævens alder (ung eller gammel) eller afsenderkuldets størrelse (9-14). Ligeledes var forekomst af hvalpevokalisering ikke påvirket af dens kropsvægt (dag 2: $P=0,78$, dag 6: $P=0,16$).

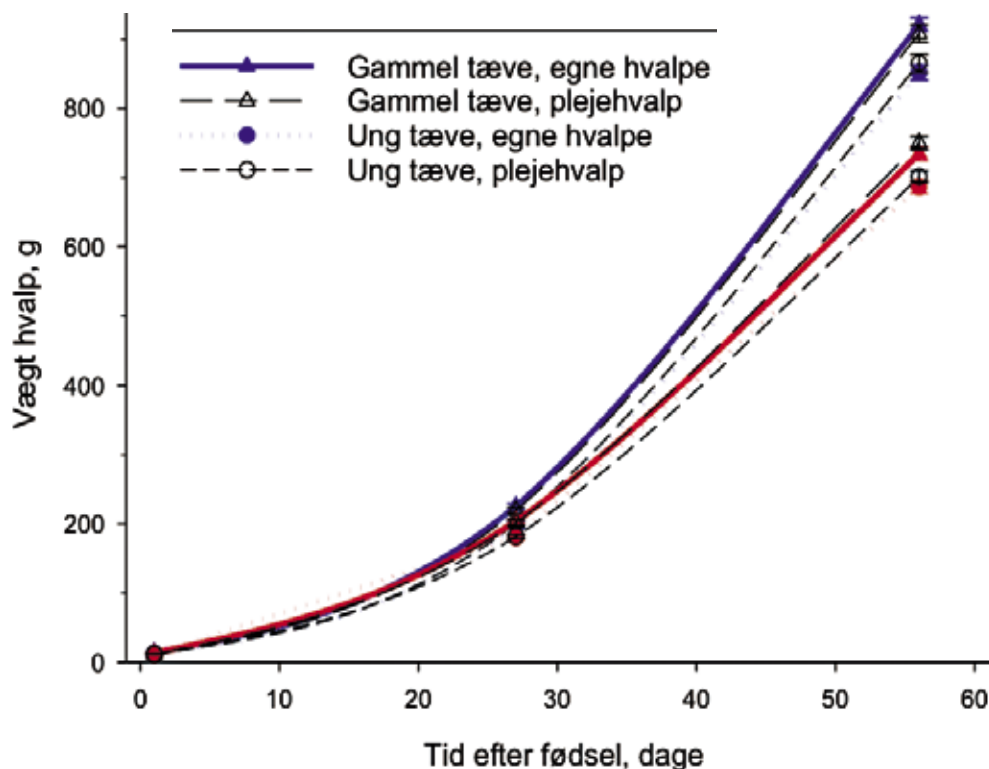
Plejhvalpens vægt ved fravæning (dag 56)

Tidlig flytning (dag 2 frem for dag 6) gav i gennemsnit 24,2 g tungere plejhvalp dag 56 efter fødsel. Denne forskel mellem dag 2 og dag 6 var statistisk sikker ($P=0,032$). Flytning af hvalp til ældre frem for unge tæver gav desuden tungere plejhvalpe efter 8 uger ($P<0,001$) med i gennemsnit 50,6 g forskel mellem unge og gamle modtagertæver. I praksis betyder forskellen, at en gennemsnitlig hanhvalp forventes at veje 8,9 % mere efter 8 uger ved flytning dag 2 til en gammel tæve i forhold til flytning dag 6 til en ung tæve.

Plejhvalpens kropsvægt faldt med stigende kuldstørrelse, både med hensyn til antal hvalpe i modtagerkullet dag 56 ($P=0,003$), men også som en effekt af antallet af hvalpe, som der var i afsenderkullet dag 1 efter fødsel ($P=0,026$). Der var ingen vekselvirkninger mellem faktorer med hensyn til plejhvalpens kropsvægt dag 56. Det vil sige, at der ikke er tegn på, at flytningsdag påvirker unge og ældre tæver forskelligt, eller at de to køn af hvalpe responderer forskelligt på flytning. Det betød heller intet for plejhvalpens vægt dag 56, om dens biologiske mor var ung eller gammel.

Slutvægten (dag 56) var ikke forskellig mellem plejhvalpen og de andre hvalpe i modtagerkullet ($P=0,27$). Derimod var både egne såvel som plejhvalpes slutvægt negativt påvirket af flytningsdag (lavere ved flytning dag 6 end dag 2, $P=0,042$) og ved førsteårstæver i forhold til ældre tæver ($P<0,001$; Figur 1).

Sammenlignes flyttede hvalpe med hvalpe i store kuld (intakt gruppe), som ikke blev udsat for flytning af hvalpe, så er slutvægten højere for de flyttede hvalpe (han: 878 vs. 826 g; hun: 725 vs. 681 g; $P<0,001$). Forskellen kan forklares af det lavere antal hvalpe i modtagerkullet, hvilket giver en højere gennemsnitlig vægt af hvalpene. Som for de øvrige hvalpevægte, så betinger opvækst hos ældre tæver en højere vægt i de store kuld som gik sammen til otte uger efter fødsel.



FIGUR 1 GENNEMSNI SVÆGT AF HAN- (BLÅ) OG HUNHVALPE (RØD) MÅLT DAG 1, 27 OG 56 EFTER FØDSEL. DER VAR INGEN FORSKEL PÅ VÆGT MELLEM EGNE HVALPE OG PLEJHVALP I MODTAGERKULDENE. OPVÆKST HOS ÆLDRE TÆVER GAV EN HØJERE SLUTVÆGT END OPVÆKST HOS UNGE TÆVER ($P<0,001$). ANKOMST AF NY HVALP DAG 2 GAV EN HØJERE SLUTVÆGT END ANKOMST AF NY HVALP DAG 6 ($P=0,042$). EFFEKTERNE VAR ENS FOR BÅDE HAN- OG HUNHVALPE BASERET PÅ TRE VEJNINGER AF 408-526 KULD FRA DAG 1-56 I 2018.

Plejhvalpens overlevelse

Plejhvalpe havde en større risiko for at dø end tævens egne hvalpe (15,8 % vs. 11,4 %, $P=0,041$) frem til dag 56 efter fødsel. Flytningsdagen (dag 2 vs. 6) havde ingen målelig effekt på hvalpenes risiko for at dø ($P=0,99$), mens det var en tendens til, at opvækst hos erfarne modtagertæver sænkede dødeligheden hos kuldet ($P=0,067$). Ses på de intakte kuld (som hverken modtog eller afgav hvalpe, kuldstørrelse 8-14), så var hvalpedødeligheden ligeledes lavere for de ældre tæver (Ældre: 9,2% vs. 1. års: 16,8%; $P=0,006$). Fordelingen af han og hun-hvalpe var ens mellem holdene (50,9% hanner; $P=0,13$) og upåvirket af tævens alder ($P=0,55$).

Der blev ikke fundet statistisk sikker forskel i hvalpedødeligheden fra dag 1 til dag 56 i kuld på 4-7, som modtog en plejhvalp (gennemsnit 12,6 %) i forhold til store kuld på 8-14, som forblev intakte (13,1 %; $P=0,75$). Det vil sige, at hvalpenes overlevelseschance ikke ser ud til at forbedres som følge af flytning fra et stort til et mindre kuld, i forhold til gennemsnittet hos store kuld som ikke udsættes for flytning.

Sår og skader på hvalpe ved 7. levende uge

Omkring dag 49 efter fødsel blev hver enkelt hvalp taget op og enkeltvis vurderet på forekomsten af sår og skader. Der var ingen effekt af tævens alder eller flytningsdagen (2 vs. 6) på om de levende hvalpe havde skader eller ej ($P > 0,10$). Hunhvalpene var markant hårdere ramt af sår ($P < 0,001$). Ud af de 2515 undersøgte hvalpe havde 6,6% hanhvalpe, men 46,1% af hunhvalpe en form for skade. De almindeligste skader var sårskorper, fortykkelser og sår på siden af halsen.

Vi ved fra tidligere forsøg at vandtildeling til hvalpe kan nedbringe sår og skader hos store kuld. I nærværende undersøgelse blev 6,4% af burene givet ekstra hvalpevand, baseret på at personalet vurderede at der var et behov. Tildelingen af hvalpevand i diegivningsperioden var ikke forskellig mellem forsøgsholdene (modtager og intakte store kuld; $P=0,45$) eller mellem de to aldersklasser af tæver ($P=0,11$).

Tævens vægt ved flytning efter 8 uger

Der var en tendens til, at tæver fra de store intakte hold tabte sig mere og dermed endte med en lavere kropsvægt ved flytning dag 56 end tæver med små kuld, der fik en plejhvalp (Intakt: 1473 g vs. Modtager: 1510 g; $P=0,088$). Tages der hensyn til kuldstørrelsen, så falder tævens slutvægt med antallet af hvalpe i kuldet ($P<0,001$) og er 3,5 % lavere dag 56, såfremt det er en førsteårstæve ($P=0,016$).

Diskussion

Baseret på modtagertævens reaktion når hun præsenteres for en ny hvalp udenfor redekassen kan vi konkludere, at: (1) modtagertæven henter fremmed hvalp hurtigere til reden dag 2 end dag 6 efter fødsel, (2) tæver reagerer hurtigere, når den ukendte hvalp vokaliserer, uanset hvalpens alder, køn eller størrelse samt (3) unge førsteårstæver reagerer lige så godt og ikke forskelligt fra ældre tæver, når de bliver præsenteret for en ukendt hvalp.

Dette bekræfter hypotesen om, at accept af fremmed hvalp favoriseres af tidlig (dag 2) i forhold til senere flytning efter fødsel (dag 6). Vi kan ikke bekræfte hypotesen om, at ældre tæver er bedre modtagere end førsteårstæver i den akutte situation, idet der ikke var forskellig adfærd mellem disse gruppers tæveadfærd, når de blev præsenteret for en fremmed hvalp.

Tidlig flytning (dag 2 frem for dag 6) og flytning til erfarne frem for til førsteårstæver giver tungere plejhvalpe efter 8 uger. Plejhvalpe vokser lige så godt som de andre hvalpe i modtagerkuld, men plejhvalpe fra store kuld har en lidt større risiko for at dø end modtagertævens egne hvalpe.

Plejhvalpens dødelighed var tilsvarende med dødeligheden som var i store kuld, hvorfra der ikke blev flyttet hvalpe, og højere end dødeligheden for hvalpe i mindre kuld. Undersøgelsen kan dermed ikke bekræfte hypotesen om (tidlig/sen) flytning som et effektivt middel til at øge overlevelsen af minkhvalpe fra store kuld, idet dødsrisikoen var ens mellem de flyttede hvalpe og hvalpe, som forblev i intakte store kuld i 2018-undersøgelsen. Sammenlignes flyttede hvalpe med hvalpe i store kuld (intakt gruppe), som ikke blev flyttet, så er slutvægten dog tydeligt forbedret for de flyttede hvalpe.

Man kan således ikke forvente en sænket hvalpedødelighed som følge af flytning af hvalpe, uanset om det sker dag 2 eller dag 6 efter fødsel. Der kan dog være andre grunde til at flytte hvalpe fra store kuld, herunder hensynet til tævens holdbarhed i hele diegivningsperioden samt et ønske om en højere vægt hos hvalpe ved ottende uge. Ved flytning anbefales det at flytte hvalpe tidligt (de første dage) efter fødsel og så vidt som muligt vælge ældre frem for førsteårstæver som modtagere.

Omkring dag 49 efter fødsel blev hver enkelt hvalp taget op og enkeltvis vurderet på forekomsten af sår og skader. Denne del indgik i projektet for at undersøge, hvorvidt plejhvalpe er mere ramt af sår og skader end egne hvalpe som tidligere antydte af Skovgaard (1998). Resultaterne kunne ikke bekræfte at plejhvalpe er hårdere ramt af sår og skader, og bekræfter dermed den generelt gode accept af tæverne overfor fremmede hvalpe. I den ældre mindre undersøgelse (Skovgaard, 1998) blev hvalpe af anden farvetype brugt som plejhvalp, mens nærværende undersøgelse udelukkende anvendte brune mink. Vi bekræftede tidligere fund i Hansen m.fl. (2015). ved 7. levende uge, hvor (1) sårskorper, fortykkelse og sår på siden af halsen er hyppige, og (2) hunhvalpe markant udsat for disse skader.

Der tages højde for disse resultater i kommende undersøgelser af bedste flytning af hvalpe i 2019, hvor det bl.a. er interessant at se på om flytning dag 2, som tager hensyn til hvalpenes køn/størrelse, kan nedbringe forekomsten af sår og skader senere. Derudover bør fremtidige undersøgelser se nærmere på moderegenskaber hos tæverne, herunder om alle tæver med færre end 7 hvalpe er lige egnede til at modtage plejhvalpe. En grund til tæven har få hvalpe kan være at hun har haft en problematisk fødsel, med dødfødte hvalpe, hvilket kan være vanskeligt at vide

præcist når man flytter hvalpe. Vi ved i dag at dødfødte hvalpe skader pasningen af de levendefødte hvalpe den første uge efter fødslen (Schou & Malmkvist, 2017). Formålet med de fortsatte undersøgelser er – i samarbejde med København Fur – at opdatere viden om den bedste management til de danske minkavlernes vedr. den tidlige flytning af minkhvalpe.

Konklusion

Baseret på 2018-undersøgelse – med brug af chip-mærkede hvalpe – kan man ikke forvente en markant sænket hvalpedødelighed som følge af flytning af hvalpe, uanset om det sker dag 2 eller dag 6 efter fødsel. Der kan dog være andre grunde til at flytte hvalpe fra store kuld, herunder hensynet til tævens holdbarhed i hele diegivningsperioden samt et ønske om en højere vægt hos hvalpe ved ottende uge.

Ved flytning anbefales det at flytte hvalpe tidligt (de første dage) efter fødsel og så vidt som muligt vælge ældre frem for førsteårstæver som modtagere, da dette er forbundet med størst tæve accept på flytningdagen og giver den største tilvækst hos kullet ved fravæning efter 8 uger.

Anerkendelse

Projektet er i 2018 støttet økonomisk af Pelsdyrafgiftsfonden. Herudover takkes København Fur, særligt Tove Clausen, Peter F. Larsen, Michael Sønderup og Bente K. Hansen for samarbejde og diskussion af planer. Tak til de mange, som har bidraget til dataindsamlingen, herunder særligt forsøgsteknikere Birthe Houbak, Carsten K. Christensen, John M. Obidah, Betty Schou, AU-studerende Marie B. Bay, Ida S. Kristoffersen, Trine Vogensen samt Lisa Løvendahl, Mogens Olesen, Pernille Olesen og Henning Jacobsen på AU-Foulum minkfarm.

Referencer

Allison, P. D. 2010. Survival Analysis Using SAS®: A Practical Guide, Second Edition. SAS Institute Inc., Cary, 317 NC, USA. 336 sider.

Clausen, T. N. 2010. Dødsårsager fra fødsel til 1. August. Faglig årsberetning 2009, PFC, 97-103.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F. 2018. Effekt af kuldudjævning lige efter fødsel på hvalpenes overlevelse hos 1. og 2. års hunner gennem dieperioden. Faglig årsberetning 2017, KF, 13-15.

Fink, R., Rasmussen, A. & Tauson, A.-H. 2007. Chemical and amino acid composition of colostrum and mature milk differ only slightly in mink (*Mustela vison*). J. Animal. Physiol. Anim. Nutr. 91, 475-480.

Fødevareministeriet, 2006. Bekendtgørelse om beskyttelse af pelsdyr. BEK nr. 1734 af 22/12/2006.

Hansen, S. W., Schou, T. M., Møller, S. H., Bouyssie, P., & Malmkvist, J. 2015. Sårskorper kan forekomme uden forudgående åbne sår, når hvalpene er 6-7 uger gamle. Temadag om mink 2015. s 39-47. DCA rapport nr. 66, Aarhus Universitet.

Malmkvist, J., Gade, M. & Damm, B. I. 2007. Parturient behaviour in farmed mink (*Mustela vison*) in relation to early kit mortality. Appl. Anim. Behav. Sci. 107, 120-132.

Malmkvist, J. & Palme, R. 2008. Periparturient nest building: implications for parturition, kit survival, maternal stress and behaviour in farmed mink (*Mustela vison*). Appl. Anim. Behav. Sci. 114, 270-283.

Malmkvist, J. & Palme, R. 2015. Early transfer of mated females into the maternity unit reduces stress and increases maternal care in farm mink. Appl. Anim. Behav. Sci. 167, 56-64.

Malmkvist, J. 2018. Early recognition of offspring vocalisation by mink mothers. Applied Animal Behaviour Science, <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.12.011>

Martino, P. E. & Villar, J. A. 1990. A survey on perinatal mortality in young mink. Vet. Res. Comm. 14, 199-205.

Schneider, R. R. & Hunter, D. B. 1993. Mortality in mink kits from birth to weaning. Canadian Veterinary Journal (Revue Veterinaire Canadienne) 34, 159-163.

Schou, T. M. & Malmkvist, J. 2017. Early kit mortality and growth in farmed mink are affected by litter size rather than nest climate. Animal, 1-9, doi:10.1017/S1751731117000234

Skovgaard, K. 1998. Kuldudligning hos mink: Kan tæven skelne mellem eget afkom fra plejebørn i kullet? Faglig årsberetning 1997, PFR, 229-232. ✕

EFFEKT AF KULDUDJÆVNING LIGE EFTER FØDSEL PÅ HVALPENES OVERLEVELSE HOS 1. OG 2. ÅRS HUNNER Gennem dieperioden

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen,

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge overlevelse fra fødsel til dag 28 af mink hvalpe der flyttes til en anden hun i de første dage efter fødsel. Hvalpe fra kuldstørrelse 1 - 2 blev flyttet og kuld med mere end 10 hvalpe blev reduceret til maksimalt 10 hvalpe. Hvalpene blev flyttet indenfor de første få dage efter fødsel. Der blev flyttet hvalpe til hunner med kuldstørrelse 2 - 8. Der blev tilflyttet 1 - 4 hvalpe, men kun så der blev højst 9 hvalpe i modtager kullet. Resultaterne viste, at hvalpe der flyttes fra store kuld i forbindelse med kuldudjævning har større chance for at overleve end hvalpe der flyttes fra små problem kuld og der er størst chance for overlevelse hvis de flyttes til en anden års hun frem for ung hun. Når det er den mindste hvalp fra de store kuld der flyttes, har den lavere overlevelse chance end de hvalpe der flyttes ned til, måske fordi det er den svageste hvalp fra det store kuld. I forbindelse med kuldudjævning efter fødsel, anbefales det således at flytte hvalpene indenfor de første tre døgn efter fødsel, de største hvalpe flyttes, og der flyttes helst til en anden års hun med hvalpe på ca. samme alder, hvis muligt flyttes kun én hvalp til hver plejemor

Clausen, T.N., & Larsen, P.F., 2019. Effekt af kuldudjævning lige efter fødsel på hvalpenes overlevelse hos 1. og 2. års hunner gennem dieperioden. Faglig Årsberetning 2017, 22-23. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: chip mærkning, kuldstørrelse, plejemor

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate the survival from birth to day 28 of mink kits relocated to another female during the first days after birth. Kits from litter size 1-2 were relocated and litters with more than 10 kits were reduced to a maximum of 10. The kits were relocated within the first few days after birth. Kits were relocated to females with litter size 2 - 8 kits. 1 - 4 kits were relocated, but only up to 9 kits in the new litter were allowed. Results showed that kits relocated from large litters have a greater chance of survival than kits relocated from small problem litters and there is the greatest chance of survival if kits are relocated to a second-year

female compared to a first-year female. When we relocate the smallest kit from the big litters it has a lower survival rate than its new foster siblings, perhaps because it is the weakest kit from the big litter. In the case of litter size reduction after birth, it is recommended to relocate the kits within the first three days after birth, the largest kits are relocated, and preferably to a second year female with kits at approx. the same age, if possible, only one kit is relocated to each foster mother

Clausen, T.N., & Larsen, P.F., 2019. Effect of reducing litter size just after birth on the survival of kits raised by 1st and 2nd year females during the nursing period. Annual Report 2017, 22-23. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: chip marking, litter size, foster mother

Introduktion

Når der er mere end 6 hvalpe i kullet falder vægten dag 28 med omkring 10 g hver gang kuldstørrelsen stiger med 1 hvalp (personlig observation), ligeledes falder hvalpe overlevelsen i de store kuld (Clausen & Larsen, 2018). Hvalpe fra kuld med mere end 10 hvalpe, flyttes derfor ofte til en plejemor umiddelbart efter fødsel. Hunnerne kan imidlertid godt skelne mellem egne hvalpe og plejhvalpe (Malmkvist, 2017). En ældre undersøgelse tyder på, at der er flere ihjelbidte hvalpe blandt plejhvalpe i forhold til hunnens egne hvalpe (Skovgaard, 1998). Det var dog ved flytning af hvalpe ældre end hunnens egne og mellem forskellige farvetyper, således blev der ved en undersøgelse af flytning af 1 - 3 dage gamle hvalpe af samme farvetype og alder, ikke fundet forskel mellem overlevelse af egne og plejhvalpe (Clausen & Larsen, 2018). De bedste plejemødre er 2. års hunnerne, hos disse er der den bedste hvalpeoverlevelse, men det er bedst hvis plejemoren kun får en hvalp ekstra, og den bedste overlevelse blev set hos hvalpe der kom fra kuldudjævning af store kuld frem for hos hvalpe fra små problemkuld (Clausen & Larsen, 2018). Når hvalpene flyttes dag 2 frem for dag 6 er plejemødrene hurtigere til at hente dem ind i redekassen, derudover gik det hurtigst når hvalpene vokaliserede (Malmkvist, 2018). I undersøgelsen af Malmkvist (2018) blev der set større risiko for at plejhvalpe døde frem for

hunnens egne hvalpe frem til dag 56 efter fødsel. Der er mange forskellige måder at foretage kuldudjævning, hvorfor observationer af flyttede hvalpes overlevelse søges yderligere undersøgt i indeværende studie.

Materiale og metoder

Hvalpe fra kuldstørrelse 1 - 2 blev flyttet og kuld med mere end 10 hvalpe blev reduceret til maksimalt 10 hvalpe. Hvalpene blev flyttet indenfor de første få dage efter fødsel. Flyttede hvalpe blev chip mærket (transpondere) så de kunne følges. Hvalpene blev kontrolleret dag 28. Der blev så vidt muligt flyttet til hunner med kuldstørrelse 2 - 5, og om muligt kun én hvalp til hver hun.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Procedurerne Probit og T-test blev anvendt med 5 % som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

Resultater og diskussion

Praktisk på farmen viste det sig ikke nemt at flytte til kuld, hvor hvalpene var yngre og det blev i stedet tilstræbt at modtager kuldets hvalpe skulle være af samme størrelse som den flyttede hvalp. Resultatet af dette blev at ca. halvdelen af de flyttede hvalpe havde samme alder som modtagerkullet, 17,6 % var yngre end modtagerkullet og 31 % var ældre, i alt 87 % var indenfor + / - en dag. De fleste af hvalpene blev flyttet indenfor 0 - 3 dage (90 %), og de blev flyttet til hunner med kuldstørrelse 2 - 8 (87 % af hvalpene kom til kuldstørrelse 4 - 7). Blandt hvalpe fra de store kuld var det den mindste i kullet der blev flyttet.

Tidligere undersøgelser (Clausen & Larsen, 2018) har vist den bedste overlevelse ved kun at give plejemødrene 1 hvalp ekstra frem for to, men der var i denne undersøgelse for få små kuld til kun at give hunnerne 1 hvalp, 37 % af de flyttede hvalpe kom således alene til et anden kuld, 49 % kom sammen med én anden hvalp, 11 % kom sammen med to andre hvalpe og 3 % kom sammen med tre andre hvalpe til et plejekuld. Der var en stigning i procent døde fra fødsel til dag 28, hvis antal hvalpe der blev givet til plejemoderen steg (tabel 1), men forskellen var i denne undersøgelse ikke signifikant, nok især grundet et relativt lavt antal hvalpe i undersøgelsen.

TABEL 1 FREKVENSEN AF DØDE PLEJEHVALPE DAG 28 HOS PLEJEMØDRE DER FIK 1 - 4 HVALPE.

ANTAL HVALPE DER TILFØRES HUNNEN	ANTAL FLYTTEDE HVALPE TOTAL	PCT DØDE TOTAL
1	104	15,4
2	138	22,5
3	30	26,7
4	8	37,5
		NS

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM GRUPPERNE

Der var signifikant effekt af plejehunnens alder ($p = 0,02$) således at ung hunners plejehvalpe havde større risiko for at dø fra fødsel til dag 28 frem for 2. årshunnernes. For 3. års hunnerne var der ikke forskel til 1. og 2. års. Det svarer til en tidligere undersøgelse (Clausen & Larsen, 2018)

hvor der ligeledes blev set bedre overlevelse hos anden års hunner. Som i den tidligere undersøgelse (Clausen & Larsen, 2018) var der ligeledes i den nuværende en signifikant effekt af antal hvalpe i kuldene som hvalpene kom fra ($p = 0,05$), således at hvalpe der blev flyttet fra store kuld i forbindelse med kuldudjævning, havde lavere risiko for at dø (15,6 %) end hvalpe der kom fra de små kuld (31,8 %), formodentlig fordi hvalpene kom fra kuld hvor der havde været fødselsproblemer og således var svage da de blev flyttet.

Malmkvist (2018) fandt større risiko for at plejehvalpe døde frem for hunnens egne hvalpe frem til dag 56 efter fødsel. I denne undersøgelse fandt vi, at der fra fødsel til dag 28 totalt døde 15,6 % af de hvalpe der blev flyttet fra de store kuld, det tenderer til at være højere ($p = 0,1$) end dødeligheden hos de hvalpe der blev tilbage i disse kuld (11,2 %), og det var signifikant højere end dødeligheden blandt fostermoderens egne hvalpe (8,6 %, $p = 0,009$). I denne undersøgelse var det den mindste hvalp i kullet der blev flyttet, og det er muligt at det dermed også var den svageste hvalp i kullet, i den tidligere undersøgelse, hvor det var de største hvalpe der blev flyttet, blev set en lige så god overlevelse af de flyttede hvalpe som plejemoderens egne hvalpe (Clausen & Larsen, 2018).

Konklusion

Hvalpe der flyttes fra store kuld i forbindelse med kuldudjævning har større chance for at overleve end hvalpe der flyttes fra små problem kuld og der er størst chance for overlevelse hvis hvalpene flyttes til en andenårs hun. Når det er den mindste hvalp fra de store kuld der flyttes, har den lavere overlevelse chance end de hvalpe der flyttes ned til, måske fordi det er den svageste hvalp fra det store kuld. I forbindelse med kuldudjævning efter fødsel, anbefales det således at flytte hvalpene inden for de første tre døgn efter fødsel, de største hvalpe flyttes, og der flyttes helst til en anden års hun med hvalpe på ca. samme alder, hvis muligt flyttes kun én hvalp til hver plejemor

References

Clausen, T.N., & Larsen, P.F., 2018. Effekt af kuldudjævning lige efter fødsel på hvalpenes overlevelse hos 1. og 2. års hunner gennem dieperioden. Faglig Årsberetning 2017, 12-15. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Malmkvist, J. 2018. Do mink mothers recognise their kits' vocalisations? In Proceedings of the 51st congress of the International Society for Applied Ethology (eds. MB Jensen, MS Herskin, J Malmkvist), p. 52.

Malmkvist, j., 2018. Plejehvalpe accepteres hurtigere og opnår en bedre tilvækst ved tidlig flytning. Temadag om aktuel minkforskning. DCA rapport nr. 129, sept. 2018

Skovgaard, K., 1998. Kuldudligning hos mink: Kan tæven skelne mellem eget afkom fra plejebørn i kullet? Faglig årsberetning 1997, PFR, 229-232. ✕

AFPRØVNING AF TO TYPER HVALPEVANDINGSSYSTEMER I DIEPERIODEN

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen,

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med afprøvningen var at undersøge hvorvidt montering af et ekstra vandingssystem foran redekassen har en positiv effekt på hvalpe og hunners tilvækst og overlevelse. Til undersøgelsen blev anvendt hvide først års hunner fordelt på 3 hold a 174 hunner i hver. I kontrolholdet gik hunner og hvalpe i standard bure med vandnippelen for enden af buret. I de to forsøgshold gik hunner og hvalpe ligeledes i standard bure med vandnippel for enden af buret, men derudover blev der i det ene hold i hvert bur monteret et ekstra vandingssystem, hvor niplen var placeret i buret lige foran redekassen, i det andet forsøgshold blev monteret slynger på drikkeniplen for enden af buret. Anvendelse af hvalpevand inde foran redekassen havde i denne undersøgelse en positiv effekt på hunnhvalpenes vægt dag 42, reducerede antallet af kuld der havde brug for ekstra hjælp samt gav en tendens til nedsat hvalpe dødelighed fra dag 28 til dag 42.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019 Afprøvning af to typer af hvalpevandingssystemer i dieperioden. Faglig Årsberetning 2018, 24-29. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: hvalpevægt, kuldstørrelse, hvalpe overlevelse

Abstract

The purpose of this study was to investigate whether installation of an extra water nipple in front of the nest box has a positive effect on growth and survival of mink kits and females. The study included white first year females divided into 3 groups consisting of 174 each. In the control group females and kits were housed in traditional cages with the water nipple at the end of the cage, in one of the experimental groups a water system for kits were installed where the nipple was placed in the cage in front of the nest box. In the other experimental group a special water nipple device was placed over the nipple at the end of the cage. The addition of additional water close to the nest box had

in this study a positive effect on female kit body weight day 42, it reduced the number of kits who needed extra care in the nursing period and there were a tendency to better kit survival from day 28 to day 42.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Investigation of two different water systems for mink kits in the nursing period. Annual Report 2018, 24-29. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: cbody weight, litter size, kit survival

Indledning

Minkhvalpe begynder at æde når de når en alder af ca. 28 dage, ældre undersøgelser viser, at de ikke begynder at drikke før omkring 9 dage senere (Steffensen et al., 2007), nyere undersøgelser har imidlertid vist, at de kan begynde at drikke samtidig med at de begynder at æde, hvis der er et let tilgængeligt vandingssystem (Malmkvist et al., 2016). Er der ikke let tilgængeligt vand vil de i den mellemliggende periode være afhængig af tævens mælk og det vand de kan optage gennem foderet. Mælken bidrager imidlertid ikke med ekstra vand i slutningen af dieperioden, idet mælken i sig selv har et højt tørstofindhold (Olesen et al, 1992). Den nødvendige vandmængde til en hvalp er 2,7 til 3,1 gram vand pr gram fodertørstof (Clausen, 2010). Dag 28 i dieperioden er der ca. 25 % tørstof i minkmælk (Olesen et al, 1992), hvis hvalpene hver drikker 30 ml mælk får de 7,5 g tørstof og skal have $(7,5 * 3 =) 22,5$ g vand, hvilket lige svarer til den mængde de får fra mælken $(30 \div 7,5 = 22,5)$. Mink mælk tørstof stiger gennem dieperioden (ca. 30 % dag 36) således at hvalpene ikke mere kan slukke deres tørst gennem mælken, og hvis ikke foderet er meget tyndt, kan de ikke opfylde deres vandbehov med mindre de får drikkevand ved siden af. For at hvalpene kan vokse optimalt, er det derfor nødvendigt med så meget vand i foderet som muligt og/eller et effektivt hvalpevenligt vandingssystem. Har hvalpene adgang til en åben vandflade (Steffensen et al, 2007)

eller et dryp-vandingssystem (Møller, 1991) begynder de at drikke tidligere, ligeledes har placeringen af drikkeniplen betydning (Brink et al., 2004). Hvalpe hvor drikkeniplen var placeret inde i redekassen eller lige udenfor redekasseåbningen, begyndte at drikke før hvalpe i kontrolgruppen, ydermere blev der set mindre spytslikning, mindre slagsmål og mindre vægttab hos hunnerne (De Rond & Kleyn van Willigen, 2012; Malmkvist et al., 2016). En lignende undersøgelse med afprøvning af to forskellige hvalpevandingssystemer hvor niplen var lige uden for redekasseåbningen havde ligeledes en positiv effekt på hvalpe og hunners vægtudvikling gennem dieperioden (Clausen & Larsen, 2018), hvorimod andre tilsvarende undersøgelser med et hvalpevandingssystem hvor niplen var lige uden for redekasseåbningen ikke viste nogen positiv effekt på hvalpevægte, hvalpetab eller kuld med bid (Clausen & Larsen, 2016; Jeppesen, 2006). Kaninvandflasker i redekassen fra dag 28 gav bedre tilvækst hos han- og hunhvalpe i perioden dag 28 til 42, for hunhvalpe var tilvæksten bedre helt frem til dag 56 (Clausen & Larsen, 2014). Nogle undersøgelser har desuden påvist færre bid, sår og mindre hvalpetab sidst i dieperioden hos kuld med kaninflasker frem for kuld uden ekstra drikkevandsforsyning (Jespersen et al., 2014), andre studier har ikke fundet forskel på bid mellem kuld med kaninvandflasker og kuld uden (Clausen & Larsen, 2014). Effekten af hvalpevand varierer således meget fra år til år afhængig af bl.a. hvor god en mælkeproduktion hunnerne har, samt hvalpenes vandbehov, og kan betragtes som en forsikring i de år hvor der er behov.

Det er væsentligt at finde de bedste og mest arbejdsvenlige systemer til hvalpene, og det undersøges derfor hvorvidt slynger på niplerne for enden af buret har lige så god effekt som hvalpevand inde ved redekassen.

Materiale og metoder

De hvide hunner blev delt i tre hold a 174 hunner i hver. Et hold fungerede som kontrol (KON) med traditionel vandnippel for enden af buret, et hold blev sat i bure med Hedensted hvalpenippel (HED). Der var først adgang til niplen når slusen blev fjernet dag 28, hvor der samtidig blev åbnet for vandet. I burene i det andet forsøgshold blev der sat slynger på niplen for enden af buret (SLY) i den uge



FIGUR 1 HEDENSTED VANDNIPPEL OG SLYNGE

hvalpene blev 28 dage (figur 1). Der var således ændring i vandingssystemet på samme tid for de to forsøgshold. Derudover gik dyrene midt på farmen i ens haller samt blev fodret og passet ens.

Der blev anvendt fodercentralfoder, hunnen blev fodret på buret indtil dag 42 i alle hold. Der var ens fordeling af unge og gamle hunner i holdene, anden års hunner blev vejjet 1/11, ung hunner blev vejjet ved sortering 6/11, alle hunner blev dernæst vejjet 19. december, 26. januar, 20. februar, dag 28 og dag 42. Fra dag 28 til dag 42 blev døde hvalpe indsamlet og obduceres. Kuld født i perioden 29/4 til 5/5 er inkluderet i undersøgelsen, hvalpene blev vejjet dag 28 og dag 42. Sygdomme, flyttede hvalpe i forbindelse med kuldudjævning, bid samt anvendelse af kaninvandflasker blev noteret.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Procedurerne Glm, Genmod og X^2 blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

Resultater og diskussion

Gennem vinterperioden var dyrene fodret og passet ens, og der var ikke signifikant forskel i hunnernes vægt gennem vinterperioden (tabel 1).

TABEL 1 HUNNERNES VÆGTUDVIKLING Gennem VINTERPERIODEN, GRAM

HOLD	ANTAL	PRIMO NOVEMBER		19. DECEMBER		26. JANUAR		20. FEBRUAR	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	65	1920	186	1688	191	1263	179	1121	133
HED	55	1894	199	1677	206	1310	206	1158	114
SLY	68	1902	217	1662	219	1259	187	1130	127
		NS		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL; HUNNER MED KULD FØDT I PERIODEN 29/4 TIL 5/5 ER INKLUDERET I UNDERSØGELSEN.

Der var imidlertid forskel i hvor meget hunnerne havde tabt sig gennem vinteren i KON og HED holdet (tabel 2). KON holdet tabte sig signifikant mere end HED holdet, på grund af 26 g højere vægt i november og 47 g lavere vægt i januar.

Hunnernes huld dagen efter fødsel var 3,0 – 3,1 i alle hold. Der var ikke forskel i kuld størrelsen mellem holdene gennem dieperioden, men der var flest døde hvalpe ved fødsel i KON holdet (tabel 3). Eneste forskel mellem holdene var et større vægttab gennem vinteren i KON frem for HED, men ikke forskel mellem KON og SLY. Antal dødfødte er imidlertid vanskeligt at opgøre korrekt, idet det er meget afhængig af hvor hurtigt efter fødsel kullet bliver optalt.

TABEL 2 HUNNERNES VÆGT TAB Gennem VINTERPERIODEN, GRAM

HOLD	PRIMO NOV TIL 26. JAN	
	GENN	STD
KON	657 a	159
HED	584 b	168
SLY	643 ab	156
	0,05	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

TABEL 3 ANTAL LEVENDE OG DØDE HVALPE PR KULD VED FØDSEL SAMT KULDSTØRRELSE DAG 28 OG DAG 42

HOLD	LEVENDE V. FØDSEL		DØDE V. FØDSEL		DAG 28		DAG 42	
	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	6,9	2,1	0,77 a	1,17	6,3	1,8	5,1	2,1
HED	7,0	2,1	0,33 b	0,64	6,1	2,0	5,5	2,2
SLY	6,9	1,9	0,43 b	0,65	6,3	1,6	5,5	2,2
	NS		0,01		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden viste forskel mellem holdene (tabel 4), SLY holdets hunner var tungest dag 28, på trods af at der ikke var forskel i vægtene i vinterperioden og at hunnerne havde været passet, fodret og vandet ens indtil dag 28. Dag 42 var der ingen signifikant forskel.

Der var ikke forskel i hvalpetabet fra fødsel til dag 28 (tabel 5), men der var tendens til forskel i hvalpetabet i perioden dag 28 til dag 42, hvor der døde fleste hvalpe i KON holdet og færrest i HED holdet.

TABEL 4 HUNNERNES VÆGTUDVIKLING Gennem DIEPERIODEN, GRAM

HOLD	DAG 28		DAG 42	
	GENN	STD	MEAN	STD
KON	1528 b	140	1422	186
HED	1568 b	168	1443	214
SLY	1586 a	173	1420	228
	0,0009		NS	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

TABEL 5 HVALPETABET PR KULD Gennem DIEPERIODEN, VEJGRUPPENS HVALPE

HOLD	FRA FØDSEL TIL DAG 28		FRA DAG 28 TIL DAG 42	
	MEAN	STD	MEAN	STD
KON	0,57	1,02	1,23	1,72
HED	0,87	1,54	0,55	1,07
SLY	0,53	1,86	0,79	1,62
	NS		NS (0,07)	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Større dødsfald blandt hvalpene skyldtes ikke umiddelbart sygdomme, idet der ikke var forskel i hvor mange kuld der blev behandlet i holdene (tabel 6). Der var et lidt højt antal hunner i SLY der fik væske under huden i slutningen af dieperioden fordi de var dehydrerede (tynde), men forskellen var ikke signifikant.

TABEL 6 BEHANDLEDE KULD GENNEM DIEPERIODEN

HOLD	DIAGNOSE, % KULD				PCT TOTAL
	DIARRE HVALPE	INFEKTIONER HUN	TYNDE HUNNER	YVER BETÆNDELSE	
KON	0	2,4	3,7	3,7	9,8
HED	2,7	4,1	1,4	2,7	10,8
SLY	0	3,8	6,3	0	10,0
	NS				NS

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Der var heller ikke forskel i antallet af hvalpe med bid i slutningen af dieperioden (tabel 7).

TABEL 7. PROCENT KULD HVOR DER VAR HVALPE MED BID

HOLD	PCT
KON	0
HED	1,4
SLY	2,5
	NS

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Der var derimod forskel i hvor mange kuld der blev bedømt til at have brugt for ekstra hjælp i form af kaninvandflasker under hedebløgen i sommeren 2018 (tabel 8). Varmen i hallerne var overvældende og både hunner og hvalpe havde problemer. Da forsøget drejede sig om afprøvning af hvalpevandingsystemer, kan det synes forkert at hjælpe med kaninvandflasker, men dette blev gjort

af dyrevelfærdsmæssige årsager. Der blev sat flest flasker op i KON holdet, dernæst i SLY holdet med lettere tilgængelig vand for enden af buret, men også i HED holdet hvor nippen var placeret lige ved redekasse åbningen blev der sat flasker op til nogle af hvalpene. Der var ligeledes nogle af hvalpene der måtte sættes i hvalpekasse, flest i KON holdet, men forskellen var ikke signifikant (tabel 8).

TABEL 8 PROCENT AF KULDENE DER FIK KANINVANDFLASKER SAT OP OG PROCENT KULD HVORFRA DER BLEV SAT HVALPE I HVALPEKASSEN

HOLD	KANIN VANDFLASKER	HVALPEKASSE
Hold	46,3 a	12,2
KON	20,3 b	8,1
HED	33,8 ab	8,8
SLY	0,003	NS

FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Ser man på hvor mange hunner der døde i dieperioden med diegivningssyge så var der flest i SLY (tabel 9), men forskellen var ikke signifikant. Det var ligeledes det hold hvor der var flest hunner der blev behandlet med væske

fordi de var meget tynde (tabel 6). Det var især i perioden dag 42 – 55 at hunnerne døde. Hedebløgen i sommeren 2018 er formodentlig en medvirkende årsag til at hunnerne havde problemer.

TABEL 9 PROCENT DØDE HUNNER GENNEM DIEPERIODEN

HOLD	PCT
KON	3,7
HED	5,4
SLY	10,0
	NS

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Der var ikke forventet en forskel i hvalpenes vægt dag 28, idet holdene var behandlet ens indtil da. Der var dog en tendens til lidt lavere vægte i KON holdets hanhvalpe frem for HED holdets (tabel 10). Hunnernes vægt i KON holdet dag 28 (tabel 4) var mindst ikke signifikant i forhold til HED) og hunnerne i KON holdet havde størst væggtab fra november til januar i forhold til HED (tabel 2), hvorvidt

det kan have betydning for hunnernes mælkeproduktion vides ikke. Dag 42 var der forskel for hunhvalpenes vedkommende, således at HED holdets hvalpe var signifikant tungere end KON holdets hvalpe (tabel 10). Det passer med at det var i KON holdet, hvor der var flest kuld der havde behov for ekstra hjælp (tabel 8). HED og SLY holdenes hunhvalpe var ikke signifikant forskellige.

TABEL 10 HVALPENES VÆGT DAG 28 OG DAG 42, GRAM

HOLD	HAN HVALPE DAG 28		HUN HVALPE DAG 28		HAN HVALPE DAG 42		HUN HVALPE DAG 42	
	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	180	38	166	36	342	86	315 b	77
HED	195	32	177	34	364	82	350 a	66
SLY	189	36	173	34	351	64	331 ab	61
	NS (0,09)		NS		NS		0,05	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Højere vægt af hunner og hvalpe ved opsætning af hvalpevand er set i andre undersøgelser (De Rond & Kleyn van Willigen, 2012; Clausen & Larsen, 2014; Clausen & Larsen, 2018), hvorimod der i nogle undersøgelser ikke er set effekt (Clausen & Larsen, 2016; Jeppesen, 2006). Forskel i

ude temperatur fra år til år er sandsynligvis en betydende faktor for hvorvidt der ses effekt. Ved at se på hvalpenes tilvækst fra dag 28 til dag 42 i denne undersøgelse (tabel 11), er der ens tilvækst i KON og SLY holdene, men lidt bedre i HED holdet, forskellen er dog ikke signifikant.

TABEL 11 HVALPETILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	HANHVALPE		HUNHVALPE	
	MEAN	STD	MEAN	STD
KON	159	69	151	55
HED	170	66	170	50
SLY	161	50	154	48
	NS		NS	

GENN ER GENNEMSNITSVÆGTEN, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

I KON holdet var der 46 % af kuldene der fik kaninflasker sat op i SLY var der 34 % (tabel 8) mod kun 20 % i HED holdet, kaninflasker giver bedre tilvækst hos hvalpene (Clausen & Larsen, 2014), og formodes at være den væsentligste årsag til, at der ikke er signifikant forskel mellem holdene. Den positive effekt af ekstra hvalpevand lige udenfor redekassen svarer til de tidligere undersøgelser (De Rond & Kleyn van Willigen, 2012; Clausen & Larsen, 2014; Clausen & Larsen, 2018). Hvorvidt åbning af vandet til HED holdets ventiler og opsætning af slynger i SLY holdet inden fødsel kunne have givet et anderledes resultat vides ikke.

Konklusion

Grundet den meget varme dieperiode 2018, var der stort behov for vand til hvalpene. Hvalpevand lige uden for redekasseåbningen gav en tendens til nedsat hvalpe dødelighed fra dag 28 til dag 42, gav bedre hunhvalpe vægt dag 42, samt reducerede antallet af kuld der havde brug for ekstra hjælp. Der var ikke signifikant effekt af slynger på niplen for enden af buret.

Referencer

- Brink, A.-L., Jeppesen, L.L. & Heller, K.E., 2004. Behaviour in suckling mink kits under farm conditions: effects of accessibility of drinking water. *Applied Animal Behaviour Science*, 89, 131-137.
- Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2018. Afprøvning af to typer af hvalpevandingsystemer i dieperioden. *Faglig Årsberetning 2017*, 143-147. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark
- Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016. Ekstra vandtildeling til sorte tæver og hvalpe i dieperioden. *Faglig Årsberetning 2015*, 141-145. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.
- Clausen, T.N., 2010. Water balance in 8 week old mink kits. NJF Seminar no. 440, September 29 – October 1, 2010, Oslo, Norway, Poster presentation
- Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2014. Effekt af ekstra vand i dieperioden. *Faglig Årsberetning 2013*, 97-100. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.
- De Rond, J. & Kleyn van Willigen, F.C., 2012. High need for drinking water in young mink kits between 30 and 50 days of age. Xth International Scientific Congress in Fur Animal Production, Copenhagen, Denmark, August 21 – 24. *Scientifur*, vol. 36, no. 3/4, 341 – 349.
- Jeppesen, L.L. 2006. Effekt af alternativ placering af drikkenippen på hvalperesultat, adfærd og vægtudvikling i diegivningsperioden hos mink. *Faglig Årsberetning 2005*, 25-30. Pelsdyr erhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.
- Jespersen, A., Hammer, A.S., Agger, J.F. & Jensen, H.E., 2014. Effekten af vandtildeling i redekassen på forekomsten af sår og dødeligheden hos farmmink (Neovison vison). *Faglig Årsberetning 2013*, 139-146. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.
- Malmkvist, J., Schou T.M., Møller, S.H. & Hansen, S.W., 2016. Mink behaviour, reproduction and welfare is influenced by nest box material and access to additional drinking nipples in the maternity unit. *Proceedings of the XIth International Scientific Congress in Fur Animal Production Helsinki Finland August 23 to 26, 2016 Scientifur Volume 40 (3/4)*, s. 351 – 354.
- Møller, S., 1991. Supplementary watering system. In: *The influence of various management, environment and nutritional elements on behaviour, physiology and production in mink*, 688 Report from the National Institute of Animal Science, Denmark. (Møller, S.H., Hansen, S.W., Lohi, O., Brandt, A., Rasmussen, P.V. & Jensen, L.V.), 33-39.
- Olesen, C.R., Clausen, T.N. & Wamberg, S., 1992. Compositional changes in mink (*Mustela vison*) milk during lactation. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*. Suppl. No. 9, 308 – 314.
- Steffensen, L.K., Hansen, S.W. & Jeppesen, L.L., 2007. Introducing an open water surface as an alternative to the traditional valve drinker for ranch mink (*Mustela vison*) in the lactation period. *Scientifur*, Vol. 31, No. 1, 7 – 18. ✕

REDUCERING AF FODERSPILD I VÆKSTPERIODEN

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen,

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Til undersøgelsen blev anvendt 4 hold á 145 hvide hanmink hvalpe. Hvalpene blev fodret med ens mængde fodercentralfoder i de fire hold gennem hele perioden. Kontrolholdet (KON) blev anbragt i standard bure og fodret på buret fra udsætning, i et forsøgshold blev hvalpene fortsat fodret på redekassen indtil 5. september (REDE), hvorefter de blev fodret på buret som normalt. De øvrige to forsøgshold fik enten et net (NET) eller en plast plade (PLA) lagt i bunden af buret under fodertråden.

Fodring på redekassen indtil september eller opsætning af plader eller net i buret under fodertråden, reducerede foderspildet i starten af vækstperioden fra 4 til 2 %. Der blev ikke observeret problemer med beskidte reder eller beskidte plader i forsøgsholdene, samtidig med at der var en tendens til en bedre tilvækst end i kontrolholdet ved samme tildelte foder mængde.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Reducering af foderspild i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2018, 30-33. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: redekasse, net, plader

Abstract

For this investigation we used 4 groups of 145 white male kits. The four groups were fed with the same amount of feed throughout the growing furring period. The control group (KON) was placed in standard cages and fed at the top of the cages, in one of the investigation groups the kits were fed on the top of the nest boxes until September 5 (REDE) after which they were fed at the top of the cages like the control group. In the remaining two investigation groups either a net (NET) or a plastic plate (PLA) were placed at the bottom of the cage under the feed wire.

Feeding on the nest box until September or plates or nets in the cage under the feed wire reduced feed waste at the start of the growing period from 4 to 2%. No problems with dirty nest boxes, nets or plates were observed in the investigation groups, and at the same time there was a tendency for better growth than in the control group at the same assigned feed amount.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Reduction of feed waste in the growing period. Annual Report 2018, 30-33. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: nest box, net, plate

Indledning

Fodring af mink på burtråd vil resultere i foderspild under burene. Hvor meget der spildes vil afhænge af bl.a. foderets konsistens, temperaturen, dyrenes alder og fordeling af foder. Mange faktorer påvirker foderets konsistens, de enkelte råvarer binder vand i forskellig mængde, nogle råvarer suger mere vand ved henstand, og nogle råvarer frigør vandet igen. Der bliver på fodercentralerne tilsat forskellige ingredienser (f.eks. tørrede roesnit-ter og Arbocell), der binder vandet i foderet og forbedrer konsistensen. Foderets temperatur er af betydning, hvis foderet ved fremstilling og udfodring indeholder "kuldegrader" vil foderet blive tyndt og falde igennem, når det "tør op". Ligeledes falder foderet lettere igennem, hvis udetemperaturen er meget høj, fremfor hvis det er meget koldt. Ved foderfordeling spildes der desuden en del af foderresten. I begyndelsen af vækstperioden har hvalpene ikke "lært" at æde af tråden og der spildes mest lige efter udsætning, sidst i vækst og pelssætning er spildet lavt (Clausen, 2004; Clausen et al., 2010).

En tidligere undersøgelse med plastplader i bunden af buret under fodertråden i hele vækstperioden viste et spild på 7,0 % uden plader mod 2,1 % med plader i begyndelsen af august og 3,8 % uden plader mod 1,1 % med plader i slutningen af august (Clausen, 2004 intern rapport). Imidlertid gik pladerne let løse og de blev fedtede, så der kom en del klatter i pelsen. Afprøvning af metalplader isat straks ved udsætning og fjernet i begyndelsen af september (Clausen et al., 2010), viste at foderspildet i starten af juli kunne reduceres fra omkring 9 % uden plader til ca. 2 % med plader og samtidig tenderede tilvæksten til at være bedre. En 7 % reduktion af foderspildet giver en god besparelse både i udgifter til foder og et mindre tab af kvælstof og fosfor. Spildet faldt derefter til ca. 1,2 % hos hvalpe uden plader i starten af august og til 0,3 % med plader, der blev ikke set problemer med foderklatter i pelsen (Clausen et al., 2010).

Formålet med denne undersøgelse var at undersøge foderspildet ved dels fortsat fodring på redekassen indtil september, og ved enten net eller plader i bunden af buret under fodertråden fra udsætning og frem til pelsning.

Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 4 hold á 145 hvide hanmink hvalpe. Hvalpene blev fodret med ens mængde fodercentralfoder i de fire hold gennem hele perioden. Kontrolholdet (KON) blev sat i standard bure og fodret på buret fra udsætning, i et forsøgshold blev hvalpene fortsat fodret på redekassen indtil 5. september (REDE), hvorefter de blev fodret på buret som normalt. De øvrige to forsøgshold fik enten et net (NET) eller en plast plade (PLA) lagt i bunden af buret under fodertråden. Hvalpene blev sat i forsøgshold i slutningen af juni, alle hanhvalpe blev vejjet ved udsætning den 14/7, samt 10/8 og 20/9. Ved sortering 1. - 3. november blev hvalpene vejjet, denne vægt betragtes som pelsningsvægten, efter pelsning blev skindene længdemålt på København Farm og kvalitetsbedømt af skinddommere på København Fur. Alle døde mink blev obduceret.

Der blev opsamlet spild under burene i perioderne 17/7 - 24/7, 1/8 - 8/8, 17/8 - 24/8, 29/8 - 5/9 og 25/9 - 2/10.

Spild blev registreret ved at lægge plastik ud under 2 x 6 bure i hvert af holdene. Plastikken blev lagt ud på jorden i hele burets /sektionens længde / bredde, efter en 14 dage blev foderspild indsamlet, gødning og halm blev frasorteret. Frisk foder samt foderrest og foderspild blev vejjet og analyseret for tørstofindhold, og udfodret og ædt foder i perioden blev beregnet. Hygiejnen i buret og redekassen blev vurderet jævnlige. Inden forsøgsstart var der udbrud af virusinfektion på farmen, der kan have bevirket en øget dødelighed i starten af vækstperioden i holdene.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Proceduren PROC GLM (ss4), LSMEANS / PDIFF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau ved beregninger af vægteforskelle, tilvækst og skindlængde samt ved skindkvalitet. Silkethed og fyldighed blev analyseret med proceduren PROBIT eller x2. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

Resultater og diskussion

Ved de forskellige fodrings metoder (fig 1 og 2), blev der ikke observeret problemer med beskidte reder eller beskidte plader.



FIGUR 1. FODRING I KON OG REDE



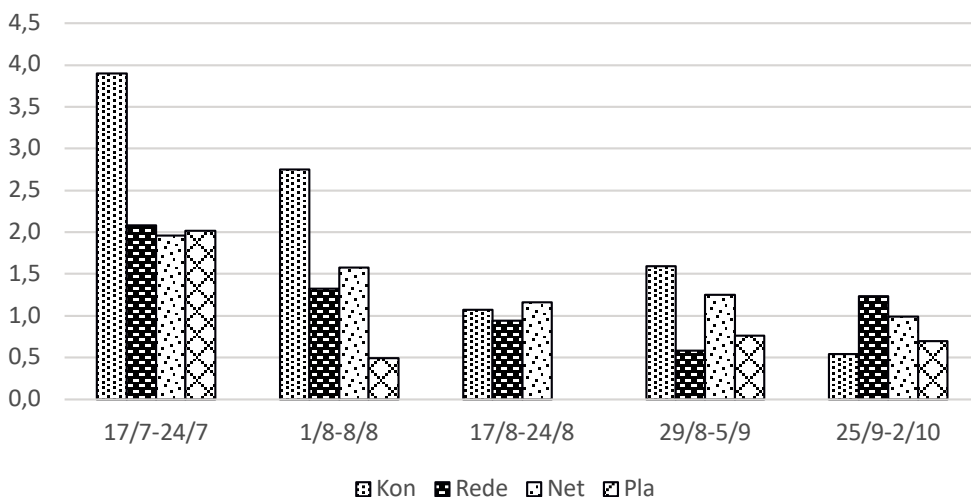
FIGUR 2 FODRING I NET OG PLA



Spild i KON i midten af juli var 4 % (fig. 3), det er under den mængde, der før er observeret, hvor man i juli - august har set spild på 7 - 9 % (Clausen, 2004; Clausen et al., 2010). Det kan skyldes mange faktorer såsom råvarer, foderets konsistens og temperatur og der er store variatio-

ner fra år til år. Spild i KON var dog stadig omkring dobbelt så høj som i de øvrige hold i juli og starten af august (fig 3). Spildet faldt gennem vækstperioden for alle hold, som det er set før (Clausen, 2004; Clausen et al., 2010) og lå i den sidste del af vækst og pelssætning på omkring 1 %.

% spild



FIGUR 3 SPILD VED ORSKELLIGE FODRINGS-METODER; MÅLING I PLA HOLDET 17/8 TIL 24/8 UDGIK

Hvalpene blev sat ens ud i holdene med hensyn til kuld-størrelse og fødselsdato, alligevel var der forskel i hvalpevægtene ved udsætning (tabel 1).

TABEL 1 VÆGT UDVIKLINGEN Gennem VÆKSTPERIODEN I GRAM SAMT SKINDLÆNGDEN I CM

HOLD	UDSÆTNINGS VÆGT 14/7	VÆGT 10/8	VÆGT 20/9	VÆGT 1/11
KON	1301 (242) c	1923 (277) c	2937 (425) c	3245 (437)
REDE	1386 (241) a	2039 (297) a	3071 (417) a	3342 (473)
NET	1365 (241) ab	2004 (266) ab	3039 (406) ab	3346 (442)
PLA	1294 (251) bc	1936 (273) bc	2959 (414) bc	3304 (430)
	0,01	0,003	0,02	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL.

Da der var forskel i udsætningsvægtene mellem holdene ses i stedet på tilvæksten i de forskellige perioder (tabel 2) og i perioden 14/7 til 10/8 var der tendens til bedre til-

vækst i REDE frem for i KON. Fodertildelingen til holdene var ens og der var det største spild i KON i den periode (fig 3).

TABEL 2 TILVÆKST Gennem VÆKSTPERIODEN

HOLD	TILVÆKST, GRAM			
	14/7 – 10/8	10/8 – 20/9	20/9 – 1/11	14/7 – 1/11
KON	610 (115)	1014 (227)	293 (169)	1929 (333)
REDE	650 (135)	1023 (228)	275 (195)	1949 (397)
NET	635 (112)	1041 (215)	309 (168)	1974 (371)
PLA	631 (134)	1021 (223)	340 (172)	1995 (358)
	NS [0,06] *	NS	NS	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL. * B-A-AB-AB;

Der var ikke forskel i skindlængde og skindkvalitet (tabel 3).

TABEL 3 SKINDLÆNGDE OG KVALITET

HOLD	KVALITET, 1-12 #	SKINDLÆNGDE, CM
KON	7,1 (2,4)	93,8 (5,9)
REDE	6,3 (2,6)	94,9 (5,7)
NET	6,2 (2,4)	94,9 (5,4)
PLA	6,5 (2,5)	94,9 (5,2)
	NS	NS

KVALITET ER VURDERET PÅ EN SKALA FRA 1 – 12 MED 12 SOM BEDST; TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Der blev set forskel i skindenes fylde, hvilket forekommer ulogisk idet foderet til holdene var ens (tabel 4). Der var ikke forskel i procent silkede skind og i frekvensen af våd bug (tabel 4). Der var ikke problemer med beskidte reder eller beskidte plader. På trods af at pladerne blev

i buret hele perioden, blev ikke set mere klat i skindene med foderplader eller fodernet i modsætning til en tidligere undersøgelse (Clausen, 2004), hvor plastplader gav betydeligt mere klat i skindene.

TABEL 4. SILKETHED OG FYLDE SAMT FREKVENSEN AF VÅD BUG OG KLAT

HOLD	SILKET, %	VÅD BUG, %	KLAT, %	ULD, %		
				FLADE	NORMALE	FYLDIGE
KON	34,0	19,0	22,0	9,4	74,5	16,0
REDE	24,0	22,0	20,0	13,0	83,0	4,0
NET	41,0	20,0	25,0	11,9	78,2	9,9
PLA	32,0	14,0	22,0	5,6	83,3	11,1
	NS [0,09]	NS	NS		0,04	

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE

Der var ikke forskel i frekvensen af døde mink mellem holdene (tabel 5). Frekvensen er højere end vi normalt ser (1 – 2 %), det skyldes blandt andet, at der var en virus infektion på farmen i juni og juli måned, som resulterede i mange dødsfald, som også strakte sig ind i forsøgsperioden.

TABEL 5. PROCENT DØDE HANNER OG TÆVER GENNEM VÆKSTPERIODEN

	% DØDE HANNER OG TÆVER
KON	3,8
REDE	3,6
NET	3,1
PLA	3,4
	NS

NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE

Konklusion

Fodring på redekassen indtil september eller opsætning af plader eller net i buret under fodertråden, reducerer foderspildet i starten af vækstperioden fra 4 til 2 %. Der blev ikke observeret problemer med beskidte reder eller beskidte plader og der var en tendens til en bedre tilvækst end i kontrolholdet ved samme tildelte foder mængde.

Referencer

Clausen, T. N., Blæsbjerg, M. & Sandbøl, P. 2010. Reducering af foderspild i vækstperioden ved hjælp af metalplader i burene. Faglig Årsberetning 2009, 147-150. Pelsdyrervhervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., 2004. Foderspild vækstperioden 2004. Intern Rapport IR07-02

Sole, 2007. Foderudvalgsmøde, Solegruppen. ✕

UDSKILLELSEN AF B-VITAMINER I URINEN FRA MINKHUNNER FODRET MED FORSKELLIGE NIVEAUER AF B-VITAMIN I PERIODEN JANUAR-MAJ OG FRA MINKHVALPE I JUNI

Af Mette Skou Hedemann¹, Tove N. Clausen², Anne Krog Ingerslev¹, Peter Foged Larsen² & Søren Krogh Jensen¹

¹Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Alle 20, Postboks 50, 8830 Tjele

²Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, 8200 Aarhus N

Sammendrag

Studiet belyser minkhunnernes behov for B-vitaminer i vinter-, drægtigheds- og dieperioden ved at måle udskillelsen af B-vitaminer og deres nedbrydningsprodukter i urinen. Hunnerne udskilte vitamin B2 (riboflavin), nedbrydningsprodukter af vitamin B3 (niacin), vitamin B5 (pantotensyre) og vitamin B6 (pyridoxal) i urinen. Udskillelsen steg generelt med foderets B-vitaminindhold som indikation på, at foderet kan dække hunnernes behov uden tilsætning af B-vitamin. Foderets B-vitaminindhold påvirkede ikke hvalperesultatet ved fødsel. Hvalpene havde lav udskillelse af B-vitaminer i urinen, hvis de fik mindre end den anbefalede tilsætning, hvilket indikerer lav overførsel af B-vitamin via mælken og/eller lav optagelse af B-vitamin fra foderet. Der var ikke forskel på hvalpenes vægt dag 28, men dag 42 vejede hvalpene, som ikke havde fået B-vitamin i foderet signifikant mindre end hvalpene, som havde fået anbefalet tilsætning. Dette antyder, at mens hvalpene dies, får de tilstrækkelig B-vitamin til at opretholde normal vækst, hvorimod når de begynder selv at indtage foder, har de svært ved at udnytte B-vitaminerne i foderingredienserne og/eller foderingredienserne i den aktuelle blanding indeholder utilstrækkelig B-vitamin til at dække hvalpenes behov. Ved den aktuelle fodersammensætning kan tilsætningen af B2, B3, B5 og B6 vitaminerne til hunnerne reduceres. Hvalpene har ved den anvendte fodersammensætning brug for tilsætning af B-vitamin til foderet, men vi kan på baggrund af undersøgelsen ikke sige hvor meget. NRC's behovsangivelser for B-vitaminer er af ældre dato og hovedsagelig baseret på undersøgelser på dyr i vækstperioden, og det reelle behov for hvalpe i dieperioden er dermed ikke fastlagt.

Hedemann, M.S., Clausen, T.N., Ingerslev, A.K., Larsen, P.F., Jensen, S.K. 2019. Udskillelsen af B-vitaminer i urinen fra minkhunner fodret med forskellige niveauer af

B-vitamin i perioden januar-maj og fra minkhvalpe i juni. Faglig Årsberetning 2018, 34-42. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Keywords: mink, B-vitaminer, riboflavin, niacin, pantotensyre, pyridoxal

Abstract

The study elucidated the need of female mink for vitamin B during the winter and suckling period. Female mink excreted vitamin B2 (riboflavin), metabolites of vitamin B3 (niacin), vitamin B5 (pantothenic acid) and vitamin B6 (pyridoxal) in the urine. The excretion generally increased in response to increased content of vitamin B in the feed showing that the feed contained sufficient amounts of vitamin B. The number of kits at birth was not affected by vitamin B in the feed. The excretion of vitamin B in urine was very low from kits of mothers that were fed less than the recommended amount of vitamin B. This indicates a low transfer of vitamin B from mother to kit and/or low uptake of vitamin B from the feed. The weight of the mink kits did not differ on day 28 but on day 42 mink kits fed without addition of vitamin B weighed significantly less than mink kits fed the recommended amount. This suggests that the kits are getting enough vitamin B for growth when they suckle but when they start to eat the feed they have difficulties utilizing the vitamins in the feed ingredients and/or the feed ingredients in the actual feed contain too little vitamin B to cover the need of the kits. This investigation shows that when using the feed formulation of the present study the addition of some B vitamins may be reduced for the females, however the mink kits needs addition of vitamin B to the feed. The NRC specifications of requirements of vitamin B are of older date and primarily based on experiments with growing animals and the actual requirement of kits during the nursing period has not been established.

Hedemann, M.S., Clausen, T.N., Ingerslev, A.K., Larsen, P.F., Jensen, S.K. 2019. B-vitamins in the urine from female mink fed different levels of B-vitamins during the period January-May and from mink kits in June. Annual Report 2018, 34-42. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: mink, vitamin B, riboflavin, niacin, pantothenic acid, pyridoxal

Indledning

B-vitaminerne er vigtige for en lang række processer i protein-, fedt- og kulhydratomsætningen. Det er nu i en række undersøgelser vist, at tilsætningen af B2, B3, B5 og B6 vitaminerne kan reduceres i vækst- og pelssætningsperioden (Hedemann et al., 2018; 2017). Disse resultater kan dog ikke direkte overføres til hunner i vinter-, parings-, drægtigheds- og dieperioden, da det er perioder med varierende foderindtag og behov, som nødvendiggør specifikke undersøgelser af disse perioder. Vitaminerne er vigtige for hunnens egen sundhed, men også for at hun bliver drægtig og føder sunde og raske hvalpe. I dieperioden er mælken i begyndelsen hvalpenes eneste ernæring, og dermed er hunnens overførsel af vitaminer til mælken afgørende. Formålet med dette forsøg var at undersøge minkhunnens udskillelse af B-vitaminer i vinter- og dieperioden samt hvalpes udskillelse i ca. 5 ugers alderen.

Materiale og metoder

Til undersøgelse af behovet for B-vitaminer i vinter- og dieperioden blev anvendt 2 hold á 315 brune hunner samt 2 små hold á 19 hunner. I de to store hold var der både andenårshunner og unghunner, blandt unghunnerne var der to forskellige afstamninger, hunner i de forskellige kategorier blev ligeligt fordelt mellem holdene. De 2 store hold var et kontrolhold tilsat den anbefalede vitamin- og mineralpræmix (KON) (Team Foder, 2017) (Tabel 2) og et hold helt uden tilsætning af B-vitamingruppen (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12 samt CholinExtra) (UB), men med de øvrige vitaminer i henhold til præmix anbefalingerne (Team Foder, 2017). De små hold, som udelukkende bestod af unghunner, var et hold med 33 % (B33) og et med 66 % (B66) af anbefalet B-vitamin tilsætning.

Forsøgsfodringen startede 16. december 2016, foderplanen ses af Tabel 1, eneste forskel var vitamin- og mineralblandingen.

Der blev fremstillet specifikke vitaminblandinger med det ønskede indhold til holdene ved start af forsøget i december og igen i marts, kontrolholdets blanding ses af Tabel 2. Foderets indhold af næringsstoffer, aminosyrer og vitamin- og mineralindhold blev analyseret.

Hunnerne i holdene KON og UB blev vejte 22. september, ved sortering 1. november, 16. december, 4. januar, 20. februar, samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Dagen efter fødsel blev hunnerne huldvurderet (Hynes et al., 2004). Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28 og dag 42, kuld født i perioden 27. april til 2. maj med mindst 7 hvalpe ved fødsel blev vejte dag 28 og dag 42. Døde hvalpe blev registreret hele perioden og obduceret fra dag 28. I tilfælde af bid/slagsmål blev dette registreret, hvalpene blev behandlet og kuldet blev delt. I alle hold blev kuld med 6 hvalpe og

TABEL 1 FODERPLANER (GENNEM PERIODEN BLEV PLANERNE JUSTERET, HVIS DER KOM RÅVARER MED EN ÆNDRET NÆRINGSSTOFFSAMMENSÆTNING)

	16/12-2016 TIL FRAVÆNNING
Fiskeafskær 3-5 % fedt	33.7
Industrifisk 8-12 % fedt	20
Affedtet fjerkræ	20
Ensilage Fishpro	3
Byg + Hvede	8.6
Hæmoglobin	3
Kartoffel protein	3
Majsgluten	3
Sojaolie	2.68
Svinefedt	1.34
Vitamin-mineralpræmix	0.20
Vand	1.56
Plantal	
Tørstof, %	36
Aske, %	3.3
Energi kcal / 100 g	153
Energifordeling P:F:K	45:40:15

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER FULGTE ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER 2016 (TEAM FODER, 2016); FRA 11. JANUAR BLEV TILSAT 1,5 % ROESNITTER

TABEL 2 ANBEFALET INDHOLD AF VITAMINER OG MINERALER I KONTROLHOLDETS VITAMIN/MINERALPRÆMIX HVORAF DER BLEV BRUGT 0,2 % I FODERET (TEAM FODER, 2017)

	KONTROL VITAMIN-MINERALBLANDING PR KG PRÆMIX	
A-vitamin	1000	1000 i.e
D3-vitamin	350	1000 i.e
E-vitamin/dl-alfa-tokoferol	30.000	Mg
B1-vitamin (thiamin)	12.500	Mg
B2-vitamin (riboflavin)	4.000	Mg
B6-vitamin (pyridoxin)	4.000	Mg
B12-vitamin (cobalamin)	25	Mg
B5-vitamin (D-pantotensyre)	4.000	Mg
B3-vitamin (niacin)	8.00	Mg
B9-vitamin (Folsyre)	500	Mg
B7-vitamin (biotin)	100	Mg
CholinExtra	60.000	Mg
Zn	5.000	Mg
Mn	7.795	Mg
Cu	500	Mg

flere delvist fravænnet dag 42 efter fødsel for at undgå bid blandt hvalpene (Clausen & Larsen, 2015).

Prøvetagning

Der blev udtaget urinprøver d. 3. januar, 28. februar, 6. marts, 30. marts, 19. april og 2. juni (af hvalpe). Fra holdene KON og UB blev der indsamlet prøver fra 15 minkhunner mens antallet af prøver var lavere i B33 og B66, da der var få hunner i disse hold, og det ikke lykkedes at få fra alle dyr (Tabel 3). Fra hvalpene blev der indsamlet 5-11 prøver pr. hold.

TABEL 3 ANTAL URINPRØVER INDSAMLET FRA MINKHUNNER OG HVALPE (2. JUNI) PÅ DE ENKELTE HOLD

HOLD	UB	B33	B66	KON
3. januar	14	8	10	15
28. februar	15	5	7	15
6. marts	15	6	12	15
30. marts	15	6	11	15
19. april	15	11	9	15
2. juni	10	11	5	10

Urinprøverne blev indsamlet som spoturinprøver. Prøverne blev indsamlet ved, at hunnerne og hvalpene blev fanget og holdt ud over kanten på buret. Mange mink tisser spontant, når de bliver jaget ud af redekassen og fanget. Urinen blev opsamlet i et plastbæger og herefter fordelt i rør og frosset med det samme.

Prøveforberedelse og analyse

Urinprøverne blev fortyndet med vand (90 µl urin + 90 µl vand), og der blev tilsat intern standard (Glycocholic acid (Glycine-113C) og p-chlorophenylalanine) opløst i acetonitril. Herefter blev prøverne centrifugeret og supernatanten blev overført til vials.

Prøverne blev injiceret på UHPLC (ultra high performance liquid chromatography, Ultimate 3000, Dionex). UHPLC'en er koblet til et massespektrometer (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen), som detekterer positive eller negative ioner efter prøven er blevet ioniseret ved elektrospay ionisering.

Databehandling

Data analyseres vha. avancerede mønstergenkendelsesmetoder, Principal Component Analyse (PCA) og Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS). Ved at bruge disse metoder kan man identificere eventuelle grupperinger, der indikerer forskelle i metabolitmønstret, og metabolitterne, som har størst betydning for grupperingen, kan identificeres. Herefter er de metabolitter, hvor der findes en kommerciel standard, blevet endeligt bekræftet ved at analysere standarden under samme betingelser som prøven og sammenligne resultaterne.

Resultater

Foder og dyr

Foderets næringsstofsammensætning svarede tilfredsstillende til det planlagte (Tabel 4).

TABEL 4 DET ANALYSEREDE INDHOLD AF NÆRINGSSTOFFER, GENNEMSNIET AF ANALYSER Gennem hele perioden

	ANALYSETAL
Tørstof, %	34.5
Aske, %	3.1
Energi kcal / 100 g	144
Energifordeling P:F:K	44:39.5:16.5

Analyser af vitaminer i foderet i KON, B66, B33 og UB (Tabel 5) viste, at der for alle vitaminer var nok i foderet i forhold til det angivne behov til mink (NRC, 1982).

TABEL 5 VITAMININDHOLD I KON (MARTS OG JUNI), B33, B66 OG UB (JUNI), MG/KG VÅDFODE

	KON MARTS	KON JUNI	B66 JUNI	B33 JUNI	UB JUNI	BEHOV ¹ (NRC, 1982)	BEHOV ²
Thiamin (B1)	21.0	25.2	17.5	10.3	0.7	1.2	0.41
Riboflavin (B2)	9.92	9.83	6.62	3.24	1.17	1.5	0.52
Pyridoxin (B6)	9.37	9.06	6.67	4.28	1.39	4.0	1.38
Cobalamin (B12)	0.08	0.0938	0.0801	0.0678	0.0476	0.03	0.0104
Niacin (B3)	43.7	77.0	66.5	45.7	32.0	24	8.3
Biotin (B7)	0.223	0.229	0.184	0.138	0.080	<0.14	<0.048
Pantotensyre (B5)	10.90	10.00	8.98	6.14	3.84	9.5	3.3
Folsyre (B9)	0.900	0.966	0.865	0.700	0.194	0.5-6.4	1.7-2.2
Cholin	578	534	574	566	536		
E	62.7	54.4	57.4	60.6	55.5	31.4	10.8
D3 IE/kg	4430					<10.000	<3450
A IE/kg	6230					2708-5500	934-1900

¹MG/KG TØRSTOF; ²OMREGNET TIL BEHOV PR. KG VÅDFODER

Vejning af hunnerne gennem vinterperioden (Tabel 6) viste forskel d. 4. januar hos både unge hunner og andenårs-hunner, i begge tilfælde vejede hunnerne på KON mest. Både KON holdets unghunner og andenårshunner var stadig signifikant tungere end UB holdets hunner den 20. februar.

TABEL 6 HUNVÆGTE Gennem VINTERPERIODEN, G

	HOLD	22. SEPT.	1. NOV.	16. DEC.	4. JAN.	20. FEB.
Andenårs-	KON	1674 (268)	1825 (267)	1786 (253)	1674 (248) a	1426 (188) a
Hunner	UB	1659 (250)	1810 (259)	1733 (259)	1584 (253) b	1325 (159) b
		NS	NS	NS	0,03	0,0004
Unghunner	KON		1973 (167)	1906 (224)	1721 (215) a	1345 (184) a
	UB		1982 (169)	1896 (218)	1649 (213) b	1302 (168) b
			NS	NS	< 0,001	0,007

ANDENÅRSHUNNER OG UNGHUNNER ER TESTET HVER FOR SIG. TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN, FORSKELLIGE BØGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Der var ikke signifikant forskel i goldprocenten mellem holdene (Tabel 7), numerisk færrest golde blev set i KON holdet.

TABEL 7 GOLDPROCENT

HOLD	GOLD %
KON	7.6
UB	12.0
	NS

NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Der var ikke forskel mellem holdene i hvalperesultatet ved fødsel (Tabel 8) til trods for, at unghunnerne på UB-holdet havde signifikant flere døde hvalpe ved fødsel.

For unghunnerne på UB-holdet var der signifikant større hvalpetab fra dag 28 til dag 42, hvilket resulterede i mindre kuld på dag 42.

TABEL 8 KULDSTØRRELSE OG HVALPETAB GENNEM DIEPERIODEN

	HOLD	KULDSTØRRELSE			DØDE PR. KULD V. FØDSEL	HVALPETAB	
		V. FØDSEL	DAG 28	DAG 42		FØDSEL TIL DAG 28	DAG 28 TIL DAG 42
Andenårs- Hunner	KON	7,0 (2,2)	6,7 (2,2)	6,5 (2,4)	0,18 (0,65)	0,03 (1,14)	0,19 (0,61)
	UB	7,3 (2,5)	7,0 (2,3)	6,9 (2,3)	0,25 (0,62)	0,24 (1,07)	0,17 (1,20)
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Unghunner	KON	7,1 (2,1)	6,4 (2,6)	6,1 (2,1) a	0,50 (0,96) b	0,70 (1,61)	0,27 (1,14) b
	UB	7,1 (2,1)	6,5 (2,6)	5,7 (2,8) b	0,74 (1,38) a	0,55 (1,16)	0,80 (1,77) a
		NS	NS	0,05	0,04	NS	0,0006

ANDENÅRSHUNNER OG UNGHUNNER ER TESTET HVER FOR SIG. TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Der var ikke forskel i dødsfald og sygdomme hos hunnerne i perioden (Tabel 9). Da der er tale om meget få dyr

præsenteres resultaterne for unghunner og andenårs-hunner samlet.

TABEL 9 DØDSFALD OG SYGDOMME BLANDT HUNNER I PERIODEN DECEMBER TIL FRAVÆNNING

HOLD	DØDE HUNNER	SYGE TOTAL N / %	FEDTEDE HVALPE	SYGE N / %	
				YVER BETÆNDELSE	ANDET*
KON	5.7	17 / 5.8	4 / 1.4	8 / 2.7	5 / 1.7
UB	6.7	13 / 4.7	6 / 2.2	5 / 1.8	2 / 0.7
	NS	NS	NS	NS	NS

*EVT. BÅDE FEDTEDE HVALPE OG YVERBETÆNDELSE

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden (Tabel 10) viste, at hunnerne på UB holdet vejede mindst på dag 42.

Vægttabet dag 28-42 var lavest hos unghunnerne på KON holdet, og der var ikke forskel på andenårshunnerne.

TABEL 10 HUNNERNES VÆGTUDVIKLING GENNEM DIEPERIODEN

	HOLD	HUN VÆGT DAG 28	HUN VÆGT DAG 42	HUN VÆGTTAB 28-42
Andenårs- Hunner	KON	1636 (178)	1463 (179) a	174 (96)
	UB	1598 (137)	1358 (159) b	242 (75)
		NS	0,02	NS
Unghunner	KON	1677 (186)	1512 (200) a	166 (99) b
	UB	1632 (183)	1424 (200) b	204 (140) a
		NS	0,009	0,02

ANDENÅRSHUNNER OG UNGHUNNER ER TESTET HVER FOR SIG. TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Hvalpenes vægtudvikling (Tabel 11) var ligeledes forskellig mellem holdene. Dag 28 var der kun forskel på hanhvalpe fra unghunner, hvor hanhvalpene på UB-holdet var tungest. Dag 42 var KON holdets hanhvalpe tungere end UB-

holdets hanhvalpe. Hunhvalpene fra andenårshunner vejede det samme dag 42, mens unghunnernes hvalpe vejede mindre i UB-holdet. Hvalpenes tilvækst fra dag 28 til 42 var signifikant lavere i UB-holdet for både hunner og hanner.

TABEL 11 HVALPEVÆGTE GENNEM DIEPERIODEN SAMT HVALPE TILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, G

	HOLD	DAG 28		DAG 42		TILVÆKST DAG 28 TIL 42	
		HANHVALPE	HUNHVALPE	HANHVALPE	HUNHVALPE	HANHVALPE	HUNHVALPE
Andenårs-	KON	213 [32]	195 [28]	432 [69] a	373 [60]	218 [51] a	178 [45] a
Hunner	UB	221 [34]	199 [29]	397 [75] b	350 [64]	175 [50] b	151 [44] b
		NS	NS	0,02	NS	< 0,0001	0,01
Unghunner	KON	174 [28] b	161 [30]	359 [65] a	326 [57] a	185 [48] a	166 [43] a
	UB	181 [30] a	166 [29]	327 [73] b	300 [65] b	145 [56] b	133 [50] b
		0,05	NS	0,0004	0,001	< 0,0001	< 0,0001

ANDETÅRSHUNNER OG UNGHUNNER ER TESTET HVER FOR SIG. TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE, NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Urinprøver

Resultatet af HPLC-massespektrometrianalysen af urinprøverne fra den 28. februar og 6. marts er vist i figur 1.

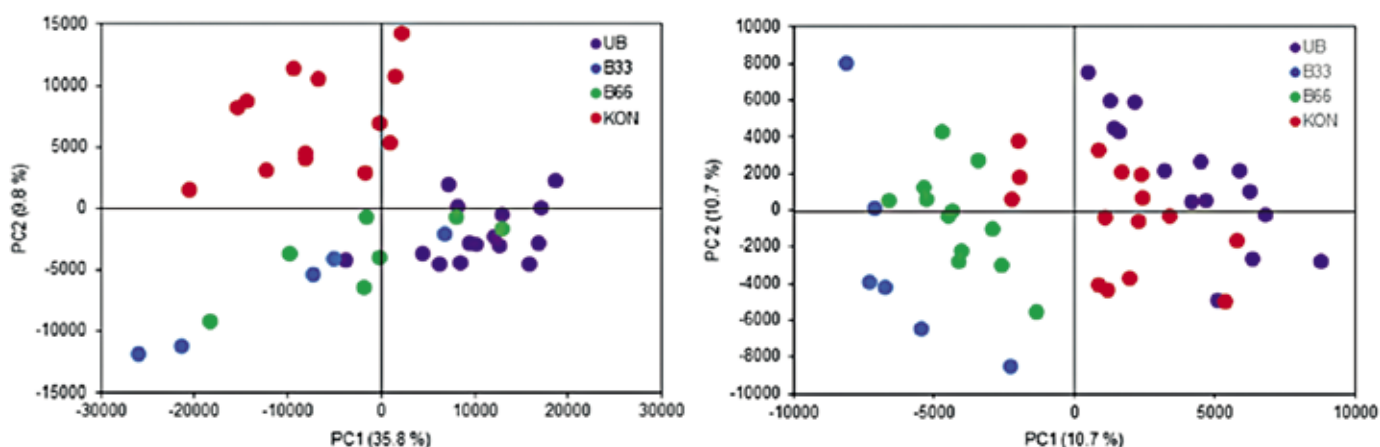


FIG 1. A) PCA-SCORES PLOT AF URINPRØVER FRA MINKHUNNER INDSAMLET DEN 28. FEBRUAR 2017 OG B) PLS-SCORES PLOT AF URINPRØVER FRA MINKHUNNER INDSAMLET DEN 6. MARTS 2017. MINKHUNNERNE BLEV FODRET MED KONTROLFODER (KON), HVOR DER ER TILSAT DEN ANBEFALEDE MÆNGDE B-VITAMIN, OG MINK FODRET MED FODER MED HHV. 33% (B33) OG 66% (B66) AF ANBEFALET B-VITAMIN TILSÆTNING OG MINK FODRET UDEN B-VITAMIN TILSÆTNING (UB).

Der er tydelig forskel mellem mink fodret med KON og de øvrige grupper den 28. februar, hvor grupperne fodret med lavere B-vitaminindsætnings end anbefalingen, samles i en gruppe, som er adskilt fra KON-hunnerne. Den 6. marts fordeler prøverne sig i fire grupper svarende til B-vitaminindholdet i foderet.

Efterfølgende er data for niveauet af riboflavin (vitamin B2), niacin (vitamin B3), pantotensyre (vitamin B5) og pyridoxin (vitamin B6) i urinprøverne trukket ud.

Resultaterne for riboflavin viser, at der er betydelig forskel mellem indholdet af riboflavin i urinen hos minkhunner på alle opsamlingsdagene (Tabel 12).

TABEL 12 NIVEAU AF RIBOFLAVIN (VITAMIN B2) I URINEN FRA MINKHUNNER FODRET UDEN TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (UB), MED 33 % ELLER 66 % AF DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING (B33 OG B66) ELLER MED DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (KON) TIL FODRET.

	RIBOFLAVIN				P-VÆRDI
	UB	B33	B66	KON	
3. januar	1103 ^b	2390 ^a	2737 ^a	2688 ^a	0.0001
28. februar	1913 ^b	1827 ^b	2255 ^b	3262 ^a	0.003
6. marts	384 ^d	1675 ^c	2160 ^b	3187 ^a	0.0001
30. marts	1099 ^b	1228 ^b	2272 ^a	2651 ^a	0.0001
19. april	570 ^c	1401 ^b	2553 ^a	2810 ^a	0.0001

FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN RÆKKE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE.

Ved forsøgets start var udskillelsen af riboflavin sammenlignelig i de tre grupper, hvor der var tilsat B-vitamin til foderet. Den 28. februar, hvor hunnernes vægt var lavest, havde hunnerne på KON-holdet signifikant højere udskillelse af riboflavin end hunnerne på de øvrige hold. Lige før parring, den 6. marts, steg udskillelsen af ribo-

flavin lineært med indholdet i foderet, hvilket indikerer, at der har været rigeligt med riboflavin til rådighed, og det overskydende er blevet udskilt. Også den 30. marts og den 19. april steg niveauet af riboflavin i urinen med mængden af B-vitaminkomplekset i foderet, hvilket viser, at der har været tilstrækkelig riboflavin i alle blandinger

TABEL 13 NIVEAU AF NIACINNEDBRYDNINGSPRODUKTERNE (VITAMIN B3) N-METHYL-2-PYRIDONE-5-CARBOXAMIDE (2PY) OG 1-METHYLNICOTINAMIDE I URINEN FRA MINKHUNNER FODRET UDEN TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (UB), MED 33 % ELLER 66 % AF DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING (B33 OG B66) ELLER MED DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (KON) TIL FODERET.

	2PY ¹					1-METHYLNICOTINAMIDE				
	UB	B33	B66	KON	P-VÆRDI	UB	B33	B66	KON	P-VÆRDI
3. januar	7929 ^b	10018 ^a	10152 ^a	10622 ^a	0.02	249 ^{bc}	315 ^b	348 ^{ab}	408 ^a	0.0004
28. februar	8577	7343	9799	9580	0.14	475 ^a	368 ^b	490 ^a	364 ^b	0.008
6. marts	2330 ^c	2619 ^c	4123 ^b	5159 ^a	0.0001	72 ^c	83 ^c	124 ^b	197 ^a	0.0001
30. marts	5976	4655	4609	6774	0.06	149	121	124	155	0.45
19. april	4561 ^{bc}	4050 ^c	6723 ^a	5840 ^{ab}	0.03	93 ^b	95 ^b	146 ^a	134 ^a	0.01

¹N-METHYL-2-PYRIDONE-5-CARBOXAMIDE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN RÆKKE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Udskillelsen af niacin i urinen vurderes på niveauet af de to niacin-metabolitter N-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (2PY) og 1-methylnicotinamide (Tabel 13). Niveauet af niacinmetabolitter er højt i urinen fra minkhunner på alle tidspunkter. Den 3. januar steg udskillelsen af 2PY til et konstant niveau, når der blev tilsat B-vitamin til foderet og den 6. marts steg den lineært med indholdet af B-vitaminkomplekset i foderet. Den 28. februar og den 30. marts er der ikke betydende forskelle i niveauet af 2PY og den 19. april varierer udskillelsen ikke lineært med indholdet i foderet. Der er høj udskillelse af 1-methylnicotinamide den

3. januar og 28. februar. Den 3. januar stiger udskillelsen med stigende indhold af B-vitaminkomplekset i foderet, men den 28. februar er udskillelsen højest på UB og B66 holdene. Den 6. marts steg niveauet af 1-methylnicotinamide i urinen lineært med indhold af niacin i foderet, mens niveauet var ens for alle grupper den 30. marts. Udskillelsen af niacinmetabolitten var lavest hos holdene UB og B33 den 19. april. Niacin kan dannes fra tryptofan, og hos mennesker er der set en højere udskillelse af niacin under graviditet, som tilskrives en øget omdannelse af tryptofan til niacin (Shibata et al., 2013).

TABEL 14 NIVEAU AF PANTOTENSYRE (VITAMIN B5) I URINEN FRA MINKHUNNER FODRET UDEN TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (UB), MED 33 % ELLER 66 % AF DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING (B33 OG B66) ELLER MED DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (KON) TIL FODERET.

	PANTOTENSYRE				
	UB	B33	B66	KON	P-VÆRDI
3. januar	583 ^c	1271 ^b	1562 ^b	2157 ^a	0.0001
28. februar	1021 ^b	1252 ^b	2034 ^a	2016 ^a	0.0001
6. marts	459 ^d	652 ^c	963 ^b	1443 ^a	0.0001
30. marts	512 ^c	900 ^b	1181 ^b	1542 ^a	0.0001
19. april	322 ^c	668 ^b	845 ^b	1272 ^a	0.0001

FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN RÆKKE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Pantotensyre udskilles i urinen som fri pantotensyre. Der var betydende forskel i niveauet af pantotensyre i urinen fra minkhunner på alle opsamlingsdage (Tabel 14), og generelt steg udskillelsen med stigende indhold af B-vitaminkomplekset i foderet. Hos mennesker har man observeret lavere udskillelse af pantotensyre i 3. trimester og under laktation, og det foreslår, at behovet for pan-

totensyre er højere på disse tidspunkter (Shibata et al., 2013). Hos minkhunnerne så vi en numerisk lavere udskillelse den 19. april, hvilket kan indikere et højere forbrug. Men der var dog stadig lineært stigende udskillelse, som indikerer, at der er tilstrækkelig pantotensyre til rådighed i foderet.

TABEL 15 NIVEAU AF NEDBRYDNINGSPRODUKTERNE AF PYRIDOXIN (VITAMIN B6) PYRIDOXAL OG 4-PYRIDOXINSYRE I URINEN FRA MINKHUNNER FODRET UDEN TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (UB), MED 33 % ELLER 66 % AF DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING (B33 OG B66) ELLER MED DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (KON) TIL FODERET.

	PYRIDOXAL				P-VÆRDI	4-PYRIDOXINSYRE				
	UB	B33	B66	KON		UB	B33	B66	KON	P-VÆRDI
3. januar	76 ^c	161 ^b	208 ^{ab}	254 ^a	0.0001	210 ^c	646 ^b	693 ^b	1175 ^a	0.0001
28. februar	107 ^c	98 ^c	250 ^a	143 ^b	0.0001	403 ^b	534 ^b	810 ^a	660 ^{ab}	0.0001
6. marts	33 ^c	41 ^c	57 ^b	77 ^a	0.0001	353 ^d	803 ^c	1438 ^b	2058 ^a	0.0001
30. marts	51 ^c	78 ^b	89 ^{ab}	99 ^a	0.0001	187 ^c	333 ^b	400 ^b	584 ^a	0.0001
19. april	30 ^d	48 ^c	71 ^b	101 ^a	0.0001	125 ^c	258 ^b	495 ^a	593 ^a	0.0001

FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN RÆKKE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Pyridoxal er en af de syv kendte former af vitamin B6 og 4-pyridoxinsyre er det primære nedbrydningsprodukt, som udskilles i urinen. Det anslås at 40-60% af den vitamin B6, som indtages, oxideres til 4-pyridoxinsyre. Der er betydende forskel på niveauet af pyridoxal og 4-pyridoxinsyre i urinen fra minkhunnerne på alle opsamlingsdage (Tabel 15). Der er lineært stigende udskillelse af 4-pyridoxinsyre på alle opsamlingsdage, hvilket indikerer at pyridoxin er i overskud i alle foderblandinger. Et humant studie har vist, at der ikke var forskel i udskillelsen af

4-pyridoxinsyre i urin fra ikke-gravide og gravide kvinder, hvorimod målinger i blod indikerer at vitamin B6-status var lavere hos gravide kvinder (Trumbo and Wang, 1993). Hos minkhunner var udskillelsen af 4-pyridoxinsyre højere før parring (6. marts) end ved tidspunktet for implantation (30. marts) og i drægtigheden (19. april). Dette indikerer, at dyret bruger mere pyridoxin under drægtighed og derfor udskiller mindre. Hos mink kan vitamin B6-status altså, i modsætning til hos mennesker, ses på udskillelsen i urinen.

TABEL 16 NIVEAU AF B-VITAMINER ELLER NEDBRYDNINGSPRODUKTER AF B-VITAMINER I URINEN FRA MINKHVALPE HVIS MØDRE ER FODRET UDEN TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (UB), MED 33 % ELLER 66 % AF DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING (B33 OG B66) ELLER MED DEN ANBEFALEDE TILSÆTNING AF B-VITAMINKOMPLEKSET (KON) TIL FODERET. URINPRØVEN ER TAGET DEN 2. JUNI.

	UB	B33	B66	KON	P-VÆRDI
Riboflavin	99 ^c	620 ^b	405 ^b	1540 ^a	0.0001
2PY*	1613	2676	1999	2719	0.12
1-Methylnicotinamide	54 ^b	95 ^{ab}	50 ^b	117 ^a	0.02
Pantotensyre	27 ^c	99 ^b	116 ^b	533 ^a	0.0001
Pyridoxal	31 ^b	58 ^a	58 ^{ab}	96 ^a	0.005
4-pyridoxinsyre	39 ^b	35 ^b	73 ^b	189 ^a	0.0001

* N-METHYL-2-PYRIDONE-5-CARBOXAMIDE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN RÆKKE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Der blev indsamlet urinprøver fra hvalpe den 2. juni. De var på det tidspunkt ca. 5 uger gamle, og var begyndt at æde selv samtidig med, at de diede ved hunnen. Udskillelsen af B-vitaminer og deres nedbrydningsprodukter (Tabel 16) var generelt lavere hos hvalpene end hos hunnerne, og udskillelsen af vitaminer og nedbrydningsprodukter i urinen var meget lav hos hvalpe af hunner, som fik mindre end den anbefalede tilsætning. Det tyder på, at hvalpenes samlede indtag af B-vitamin fra foder og mælk var lavt. Der er mangel på viden om, hvorledes vitaminer overføres til mælk, men vitaminindholdet i mælken er dog direkte relateret til moderens vitaminstatus (Montalbetti et al., 2014). Man har hos rotter fundet, at koncentrationen af thiamin, riboflavin, pyridoxin og cobalamin reduceres med en lav-vitamin diæt, men ikke stiger med høj-vitamin diæt. Hvorimod koncentrationen af niacin, pantotensyre og biotin ikke falder, når moderen fodres med en lav-vitamin diæt, men stiger når der fodres med høj-vitamin diæt (Endo et al., 2011). Hos mennesker har man fundet, at koncentrationen af riboflavin og pyridoxin i mælken kan øges, hvis der gives et supplement (Hampel

et al., 2017; Nail et al., 1980). I dette studie er det kun udskillelsen af niacin-metabolitten 2PY, som ikke er påvirket af B-vitaminindholdet i foderet.

Foruden de fire B-vitaminer, riboflavin, niacin, pantotensyre og pyridoxin, som her er beskrevet blev der også tilsat thiamin (vitamin B1), biotin (vitamin B7), folinsyre (vitamin B9) og cobalamin (vitamin B12) til foderet. Hos mennesker er udskillelsen af thiamin blevet anvendt som markør for thiaminindtaget (Tasevska et al., 2007), men det har ikke, med den metode vi har anvendt, været muligt at bestemme thiamin i minkurin. Nedsat udskillelse af biotin er en tidlig og sensitiv markør for biotinmangel (Mock et al., 2002). Men på trods af den manglende bestemmelse af biotin er der ikke grund til at antage, at minkhunnerne har lidt af biotinmangel, da der ikke har været mangelsymptomer (hårtab, udslæt og poteproblemer). Der er sandsynligvis en analyseteknisk årsag til, at biotin ikke er fundet i urinprøverne. Folinsyre i form af 5-methylterahydrofolat er tidligere blevet fundet i minkurin (Hedemann et al., 2017), mens den i et andet studie

ikke blev fundet [Hedemann et al., 2018]. Koncentrationen af folinsyre var nær behovet i UB og ca. 4 gange over behov i KON, og dermed har udskillelsen sandsynligvis ikke været høj. Cobalamin eller metabolitter af denne blev heller ikke fundet i urinprøverne, da vitamin B12 primært udskilles i galden [Shinton, 1972].

Konklusion

Analysen af foderet viste, at der for alle vitaminer var nok B-vitaminer i foderet i forhold til det angivne behov til mink (NRC, 1982), og hunnernes udskillelse af riboflavin, niacin, pantotensyre og pyridoxin frem til 19. april tyder på, at indholdet i foderingredienserne kan dække deres behov. Foderets indhold af B-vitamin havde ingen betydning for hvalperesultatet ved fødsel, og hvalpetabet fra dag 28 til 42 var kun signifikant større for unghunner på UB-holdet. Unghunnerne i UB-holdet havde et signifikant højere vægttab end hunner i KON-holdet fra dag 28 til 42 i dieperioden. Overførslen af B-vitamin fra hun til hvalp via mælken og hvalpenes egen optagelse via foderet er lav bedømt på hvalpenes udskillelse af B-vitaminer i urinen den 2. juni. Hvalpenes vægt var ikke forskellig mellem de to hold på dag 28. Dette foreslår, at hvalpenes forsyning med essentielle næringsstoffer, herunder B-vitaminer, ikke gav grundlag for forskellig vækst så længe hvalpene diæde hunnen. Derimod var tilvæksten fra dag 28 til 42 signifikant lavere i UB-holdet. I den periode er hvalpene begyndt at indtage foder, og den lavere tilvækst og den lave udskillelse af B-vitaminer i urinen i UB-holdet antyder, at hvalpene har svært ved at optage B-vitaminerne fra foderingredienserne, eller at der ikke er tilstrækkeligt B-vitamin i foderingredienserne til at dække hvalpenes behov. Behovet for B-vitaminer, som er angivet i NRC, 1982, er i de fleste tilfælde gældende for dyr i vækstperioden og er dermed ikke nødvendigvis korrekt for diæde hvalpe. Desuden er de fleste studier omkring vitaminbehov meget gamle (> 40 år), og der er sket en stor udvikling både i foderingredienser og dyrematerialet siden da, som kan have indflydelse på behovet for vitamintilsætning.

Forsøget viste, at ved den aktuelle fodersammensætning kan tilsætningen af riboflavin, niacin, pantotensyre og pyridoxin reduceres til hunnerne i vinterperioden samt under parring og drægtighed. Resultaterne fra hvalpene viste, at ved den aktuelle fodersammensætning var B-vitamintilsætning nødvendig, og flere undersøgelser er nødvendige for at afdække minkhvalpes behov for B-vitamin. Bestemmelse af hvalpenes B-vitaminbehov vanskeliggøres af, at det er svært at adskille bidraget fra tæven via mælken og hvalpens egen indtagelse af foder.

Referencer

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). *Open Journal of Animal Sciences*, 5, 71-76.

Endo, M., Sano, M., Fukuwatari, T., Shibata, K. 2011. Vitamin Contents in Rat Milk and Effects of Dietary Vitamin Intakes of Dams on the Vitamin Contents in Their Milk. *J Nutr Sci Vitaminol*, 57, 203-8.

Hampel, D., Shahab-Ferdows, S., Islam, M.M., Pearson, J.M., Allen, L.H. 2017. Vitamin Concentrations in Human Milk Vary with Time within Feed, Circadian Rhythm, and Single-Dose Supplementation. *J Nutr*. 147, 603-11.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K., Armstrong, D. 2004 Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific Congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, September 15-18. *Scientifur* 28, 3, 79-86.

Hedemann, M.S., Clausen T.N., Larsen, P.F., Jensen, S.K. 2017. Overskud af B-vitamin i minkfoderet udskilles i urinen. *Faglig Årsberetning* 2016, 41-47. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Hedemann, M.S., Larsen, P.F., Clausen, T.N., Jensen S.K. 2018. Mink fodret uden tilsætning af vitaminer og mineraler i vækst og pelssætningsperioden – konsekvenser i urin og blod med fokus på B-vitamin. *Faglig Årsberetning* 2017, 38-43. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Mock, D.M., Henrich, C.L., Carnell, N., Mock, N.I. 2002. Indicators of marginal biotin deficiency and repletion in humans: validation of 3-hydroxyisovaleric acid excretion and a leucine challenge. *Am J Clin Nutr*. 76, 1061-8.

Montalbetti, N., Dalghi, M.G., Albrecht, C., Hediger, M.A. 2014. Nutrient Transport in the Mammary Gland: Calcium, Trace Minerals and Water Soluble Vitamins. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 19, 73-90.

Nail, P.A., Thomas, R., Eakin, R. 1980. Effect of thiamin and riboflavin supplementation on the level of those vitamins in human breast milk and urine. *Am J Clin Nutr*. 33, 198-204.

NRC 1982, National Research Council. Nutrient requirements of mink and foxes (2nd ed.). National Academy Press, Washington, D.C.

Shibata, K., Fukuwatari, T., Sasaki, S., Sano, M., Suzuki, K., Hiratsuka, C. et al. 2013 Urinary Excretion Levels of Water-Soluble Vitamins in Pregnant and Lactating Women in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol* 59, 178-86.

Shinton, N.K. 1972. Vitamin B12 and totale metabolism. *British Medical Journal*, 1, 556-559.

Tasevska, N., Runswick, S.A., McTaggart, A., Bingham, S.A. 2007. Twenty-four-hour urinary thiamine as a biomarker for the assessment of thiamine intake. *Eur J Clin Nutr*. 62, 1139-47.

Team Foder, 2016. Vejledende anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2016. Intern Rapport, København Fur Forskning.

Team Foder, 2017. Vejledende anbefaling til indhold vitamin- og mineralpræmix til dansk minkfoder 2017. Intern Rapport, København Fur Forskning.

Trumbo PR, Wang JW. Vitamin-B6 status indexes are lower in pregnant than in nonpregnant women but urinary excretion of 4-pyridoxic acid does not differ. *J Nutr*. 1993, 123, 2137-41. ✕

Ernæring og fodring

JERNTILSKUD TIL MINKHVALPE DAG 3 EFTER FØDSEL

Af Karoline Blaabjerg¹, Tove N. Clausen¹, Rikke Brødsgaard Kjærup², Ida Bylov Steensgaard² & Peter Foged Larsen¹

¹ København Fur Forskning, Agro Food Park 15, 8200 Aarhus N, Danmark

² Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Allé 20, bygning D25, 8830 Tjele, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge effekten af at give minkhvalpe en injektion med jern dag 3 efter fødsel på hvalpenes hæmoglobinniveau, antal af hvide blodlegemer, jernindhold i lever samt tilvækst. I forsøget indgik 24 kuld, hvor halvdelen af hvalpene i hvert kuld fik en injektion med 2 mg jern (Fe) dag 3 efter fødsel. Jerninjicerede hvalpe havde et signifikant højere hæmoglobinniveau dag 18 efter fødsel, men der var ingen forskel dag 39 og 58. Derudover havde jerninjicerede hvalpe et signifikant højere antal neutrocytter og monocytter dag 58. Injektion med jern bevirkede også en signifikant stigning i jernindholdet i leveren dag 18, men havde ingen effekt på tilvækst fra dag 3 til 103. Herefter blev der observeret vekselvirkning mellem køn og behandling (-/+ jern) på tilvækst, men hvorvidt dette er en reel vekselvirkning bør undersøges i yderligere forsøg. Den injicerede jern dosis svarede til dosis per gram kropsvægt anvendt som standard til pattegrise dag 3 efter fødsel til forebyggelse af anæmi. Minkhvalpe har imidlertid en relativ større tilvækst i forhold til pattegrise, hvorfor den anvendte jern dosis per gram tilvækst var betydelig mindre for minkhvalpene sammenlignet med pattegrise. Dette formodes at være forklaringen på den manglende effekt af jern på tilvæksten, hæmoglobin dag 39 og 58, samt hvide blodlegemer og lymfocytter. Der er derfor behov for at gennemføre forsøg med højere jern doser for at verificere dette.

Blaabjerg, K., Clausen, T.N., Kjærup, R.B., Steensgaard, I.B. & Larsen, P.F., 2019. Jerntilskud til minkhvalpe dag 3 efter fødsel. *Faglig Årsberetning 2018*, 43-50. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark..

Keywords: anæmi, jern, hæmoglobin, tilvækst, hvide blodlegemer, immunforsvar.

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the effect of injecting mink kits with iron day 3 after birth on the kits' hemoglobin level, counts of white blood cells, content of iron in the liver as well as growth. The experiment comprised 24 litters of which half of the mink kits in

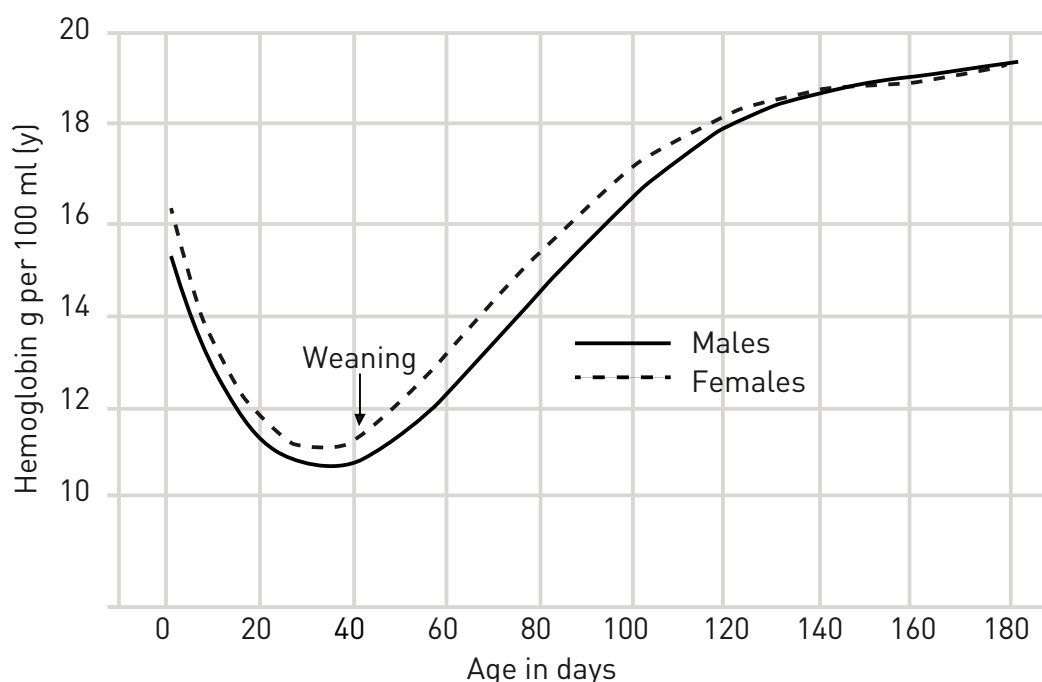
each litter was given an injection with 2 mg iron (Fe) day 3 after birth. Iron injected kits showed significantly higher hemoglobin levels day 18 after birth, but not day 39 and 58. Furthermore, iron injection resulted in higher counts of neutrocytes and monocytes day 58. Injection with iron also caused an increase in the iron content of the liver day 18 but had no effect on growth from day 3 to 103. Thereafter, interaction between sex and treatment (-/+ iron) on growth was observed, but whether this is a real interaction should be investigated in further experiments. The injected iron dose corresponded to the dose per gram of body weight used as a standard for suckling pigs day 3 after birth to prevent anemia. However, mink kits have a relatively higher growth rate compared with suckling pigs. Consequently, the used iron dose per gram of growth was considerably less for the mink kits compared with suckling pigs. This probably explains the lack of effect of iron on growth, hemoglobin day 39 and 58, as well as on white blood cells and lymphocytes. Therefore, further experiments with higher iron doses are needed to clarify that.

Blaabjerg, K., Clausen, T.N., Kjærup, R.B., Steensgaard, I.B. & Larsen, P.F., 2019. Iron supplementation to mink kits at day 3 after birth. *Annual Report 2018*, 43-50. København Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark..

Keywords: anemia, iron, hemoglobin, hematocrit, growth, white blood cells, immune system.

Introduktion

Jern er et essentielt nærringsstof. Jerns vigtigste funktion er, at det indgår i de røde blodlegemers hæmoglobin, som forsyner kroppens celler og væv med ilt. Faktisk er omkring 65% af kroppens jernbeholdning bundet i hæmoglobin, og blodets hæmoglobinniveau bruges ofte som indikator for jernstatus (Dallman, 1986). Jern har ligeledes en stor betydning for vækst (Svoboda et al., 2008). I de første uger efter fødsel flerdobler minkhvalpe deres vægt, hvilket indebærer, at de i denne periode skal producere relativt meget blod (hæmoglobin). Et forsøg fra 1970 med sorte mink viser, at blodets indhold af hæmoglobin falder markant fra fødsel og indtil hvalpene begynder at æde



FIGUR 1 BLODETS HÆMOGLOBININDHOLD HOS HAN OG HUN MINKHVALPE FRA FØDSEL OG TIL DAG 180 EFTER FØDSEL – KURVERNE ER BASERET PÅ 2497 MÅLINGER (SKREDE, 1970).

fast foder, som generelt har et højt jernindhold pga. det høje indhold af animalske råvarer (Figur 1; Skrede, 1970). Dette indikerer, at minkhvalpe i en periode efter fødsel sandsynligvis lider af jernmangel (anæmi), indtil jernbehovet kan dækkes ved tilstrækkelig optagelse via foderet. Faldet i hæmoglobin umiddelbart efter fødsel skyldes formentlig, at hvalpene fødes med et lille jerndepot, og at jernindholdet i minkmælk er lavt. Samme problematik er kendt fra svineproduktionen, hvor udviklingen i blodets hæmoglobinindhold hos pattegrise efter fødsel svarer til kurveforløbet i Figur 1. I årtier har det derfor været standard at give pattegrise et jerntilskud i første leveuge, ofte som en injektion dag 3 efter fødsel, for at forebygge udvikling af anæmi og øge pattegrisenes tilvækst og overlevelse (Seges Svineproduktion, 2017).

Udover at jernstatus har stor indflydelse på tilvæksten og dannelsen af hæmoglobin, har den også stor betydning for immunforsvaret (Cherayil, 2010). Immunforsvarets celler består af leukocytter (de hvide blodlegemer), som også er en del af blodet. Hvide blodlegemer består blandt andet af undergrupperne neutrocytter, lymfocytter og monocytter. Neutrocytter spiller en central rolle i organismens forsvar, især mod bakterielle infektioner, da de er effektive fagocytter. Lymfocytternes vigtigste roller er at danne antistoffer, regulere andre celler i immunforsvaret eller ødelægge virus-inficerede celler. Monocytter kan omdannes til makrofager og dendritiske celler i vævet, og er i stand til at nedbryde indtrængende mikroorganismer og aktivere andre dele af immunforsvaret. Hos både grise og børn er det påvist, at jernmangel kan føre til ændringer i mængden af ovennævnte hvide blodlegemer samt medføre større modtagelighed overfor infektioner (Cherayil, 2010; Rahmani & Demmouche, 2015; Kleinbeck

& McGlone, 1999). Formålet med nærværende forsøg var derfor at undersøge effekten af at give minkhvalpe en injektion med jern dag 3 efter fødsel på hvalpenes hæmoglobinniveau, antal af hvide blodlegemer, jernindhold i lever samt tilvækst.

Materiale og metoder

Forsøget blev gennemført på Kopenhagen Fur farm i dieperioden 2018. I forsøget indgik 24 brune førsteårs hunner, der hver havde et kuld på mindst 8 hvalpe. Kuld med flere end 8 hvalpe blev kuldudjævnet dag 3 efter fødsel, således at alle hunner havde et kuld på 8 hvalpe. Hunnerne og hvalpene blev tildelt foder fra Holstebro fodercentral (fra dag 28 på redekassen). Jernindholdet i foderet i de forskellige perioder var følgende (mg Fe/kg tørstof): drægtighed (1/4-25/4) 323, diegivning (26/4-28/5) 548, overgang (29/5-15/7) 536, sommer (16/7-10/8) 364, aug/sep (11/8-25/9) 425, okt/pels (26/9-9/12) 330. På dag 3 efter fødsel blev halvdelen af hvalpene i hvert kuld injiceret subkutant i nakken under kirtelvævet med en jernopløsning og den anden halvdel med en tilsvarende volumen saltvandsopløsning. Hvalpene blev fordelt indenfor kuld på de to behandlinger (-/+ jern) for at undgå, at effekt af kuld skulle påvirke effekten af behandling. Minkhvalpene blev dag 3 efter fødsel injiceret med et jernpræparat til pattegrise (Uniferon, 200 mg Fe/mL i form af jern (III)-hydroxid dextran) og i en dosis per gram kropsvægt svarende til dosis anvendt til pattegrise dag 3 efter fødsel (dvs. 2 mg Fe per minkhvalp, som angivet i Tabel 1). For at kunne identificere de enkelte hvalpe indenfor kuld, blev alle hvalpe injiceret med en chip i nakkefolden dag 3 efter fødsel. Hvalpene blev først kønsbestemt dag 15 efter fødsel, idet det var vanskeligt at bestemme kønnet dag 3. Alle hvalpe i hvert kuld blev vejlet individuelt dag 3, 18, 39,

TABEL 1 JERNTILSKUD DAG 3 EFTER FØDSEL

	VÆGT DAG 3 EFTER FØDSEL, G	JERNTILSKUD, FE MG	REFERENCE
Pattegris	1840	200	Nielsen & Kring (2002)
Minkhvalp	18,4	2	Kopenhagen Fur (2018)

TABEL 2 EFFEKT AF KØN PÅ VÆGT PÅ TVÆRS AF BEHANDLINGER DAG 3, 18, 39, 58, 103, 143 OG 186 EFTER FØDSEL

	ANTAL DYR	KØN		SEM	P-VÆRDI KØN
		HAN	HUN		
Dag 3	192	18,9	17,9	0,2	0,001
Dag 18	190	120,1	111,3	0,9	<0,0001
Dag 39	142	351,7	319,2	4,9	<0,0001
Dag 58	142	975,4	776,5	10,7	<0,0001
Dag 103	136	2367	1562	22	<0,0001
Dag 143	133	3557	2058	35	<0,0001
Dag 186	131	4031	2188	45	<0,0001

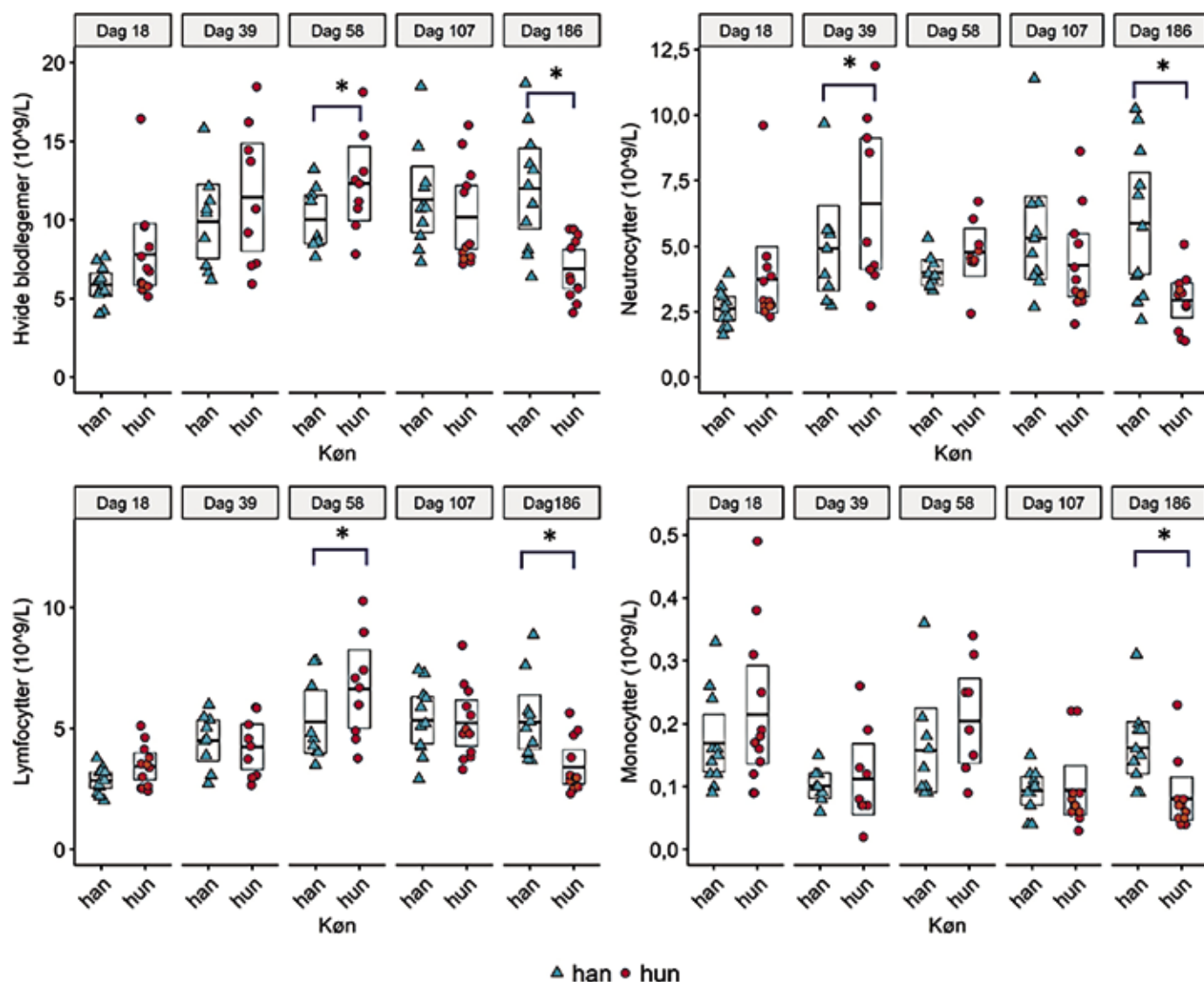
TABEL 3 EFFEKT AF KØN PÅ HÆMOGLOBIN (HGB; G/100 ML) DAG 18, 39, 58, 107 OG 186 EFTER FØDSEL SAMT EFFEKT AF KØN PÅ JERNINDHOLD I LEVER DAG 18 EFTER FØDSEL (MG/G TØRSTOF) L

	ANTAL DYR	HAN	HUN	SEM	P-VÆRDI
Dag 18					
HGB, g/100 mL	23	9,90	10,34	0,13	0,04
Fe lever, mg/g tørstof	24	0,98	0,94	0,05	0,61
Total Fe lever, mg	24	1,69	1,52	0,07	0,16
Lever, tørstof %	24	35,32	35,16	0,42	0,80
Lever, g	24	4,93	4,74	0,11	0,24
Levervægt: kropsvægt	24	0,04	0,04	0,001	0,12
Dag 39: HGB, g/100 mL	18	11,07	9,97	0,52	0,28
Dag 58: HGB, g/100 mL	18	12,82	13,43	0,41	0,44
Dag 107: HGB, g/100 mL	22	16,93	16,79	0,15	0,56
Dag 186: HGB, g/100 mL	22	19,91	20,39	0,20	0,19

58, 103, 143 og 186 efter fødsel og fravænet dag 59. Der blev taget blodprøver fra en vene i halsen (v. Jugularis) af to hvalpe fra hvert kuld dag 18, 39 og 58 efter fødsel. Derudover blev der dag 107 og 186 taget blodprøver fra en vene i forbenet (v. Cephalica) af to hvalpe fra kuldene brugt til bestemmelse af effekt af køn på blodparametrene (dvs. halvdelen af kuldene; se afsnit nedenfor). Dag 18 blev hvalpe, hvorfra der blev taget en blodprøve, aflivet for at udtage lever til bestemmelse af jernindholdet vha. ICP-MS samt sikre en tilstrækkelig stor blodprøve nødvendig for at gennemføre de planlagte analyser. Blodprøverne blev opsamlet i K-EDTA rør og analyseret ved hjælp af en automatisk celleanalysator (hæmocytometer, ProCyte Dx® Haematology Analyzer, IDEXX Laboratories Sverige AB) for hæmoglobin, hematokrit (procentdel af blodet, der er røde blodlegemer) og antal hvide blodlegemer (inkl. neutrocytter, lymfocytter og monocytter). På grund af fejl i kalibreringen, nødvendig for bestemmelse af hematokrit vha. hæmocytometer, er hematokritværdierne

ikke medtaget i denne artikel. Desværre blev vi først opmærksomme på denne fejl efter, at nogle af disse ikke-valide hematokritværdier allerede var publiceret i Blaabjerg et al. (2018a; 2018b).

Resultaterne for hæmoglobin, lever samt tilvækst blev analyseret ved hjælp af MIXED proceduren i (SAS Institute Inc., 2004). Resultaterne for hvide blodlegemer blev analyseret i statistikprogrammet RStudio (Bates et al., 2015; Halekoh and Højsgaard, 2014; Lenth, 2016; Pinheiro et al., 2018; RStudio Team, 2016). Resultaterne er angivet som least square means med standard error of the mean (SEM). Statistisk signifikans blev accepteret ved $P \leq 0,05$ og tendenser ved $0,05 < P \leq 0,10$. For de hvide blodlegemer blev der testet for homogen varians vha. Bartlett's test, og ved heterogen varians blev der taget højde for dette i den statistiske model. Behandlings- og kønsforskelle blev separeret ved hjælp af PDIFF option. Outliers blev identificeret vha. M estimation (Huber, 1973) i ROBUSTREG proce-



FIGUR 2 EFFEKT AF KØN PÅ IMMUNCELLER I BLODET DAG 18, 39, 58, 107 OG 186 EFTER FØDSEL. RESULTATERNE ER VIST SOM GENNEMSNIT MED 95% KONFIDENSINTERVAL OG DE INDIVIDUELLE VÆRDIER ER INDTEGNET. * ANGIVER AT P-VÆRDIEN ER MINDRE END 0,05

duren i SAS. Effekt af køn og behandling på tilvækst blev analyseret vha. en model indeholdende køn og behandling (-/+ jern) som fixed-effekt parametre og deres vekselvirkninger samt kuld som random og startvægt dag 3 som co-variat. For både at kunne bestemme effekt af køn og behandling på hæmoglobin, antal hvide blodlegemer samt jernindhold i lever blev der udtaget blod- og leverprøver fra to hvalper per kuld, som enten havde fået samme behandling (-/+ jern), men havde forskelligt køn, eller som havde samme køn, men havde fået forskellig behandling. Det var derfor ikke muligt at bestemme, om der var vekselvirkning mellem køn og behandling, da det ville kræve kuld, hvorfra der blev taget prøver fra fire hvalper med alle ovenstående kombinationer af køn og behandling.

Resultater og diskussion

I forsøget var hvalpeoverlevelsen høj idet kun to hvalper døde inden dag 18. Tabel 2 viser, at hanhvalpene allerede dag 3 efter fødsel havde en signifikant højere vægt end hunhvalpene, og at vægtforskellen mellem køn steg i løbet af forsøgsperioden.

Effekt af køn på hæmoglobin og jernindhold i leveren er vist i Tabel 3. Det fremgår, at hæmoglobinniveauet stiger fra dag 18 og frem til dag 186 hos både hun- og hanhvalpene, hvilket stemmer overens med Skrede (1970; Figur 1). Hunhvalper havde et signifikant højere hæmoglobinniveau i forhold til hanhvalper dag 18 efter fødsel, men der var ingen forskel dag 39, 58, 107 og 186 efter fødsel. Skrede (1970) observerede et højere hæmoglobinniveau hos hunhvalper i forhold til hanhvalper fra fødsel og frem til omkring dag 140 efter fødsel (Figur 1). Det højere hæmoglobinniveau hos hunhvalper skyldes formentlig deres lavere tilvækst i forhold til hanhvalperne (Tabel 5). At samme kønsforskelle ikke ses dag 39, 58, 107 og 186 må være et udtryk for, at hanhvalperne på det tidspunkt optager tilstrækkeligt med fast foder og dermed jern til at opnå samme hæmoglobinniveau som hunhvalperne til trods for hanhvalpernes større tilvækst. Derudover viser Tabel 3, at der ikke var forskel på jernindhold i lever, levervægt og forholdet levervægt: kropsvægt mellem køn dag 18 efter fødsel.

TABEL 4 EFFEKT AF BEHANDLING (-/+ JERN) PÅ HÆMOGLOBIN (HGB; G/100 ML) DAG 18, 39 OG 58 EFTER FØDSEL SAMT EFFEKT AF BEHANDLING PÅ JERNINDHOLD I LEVER DAG 18 EFTER FØDSEL (MG/G TØRSTOF)

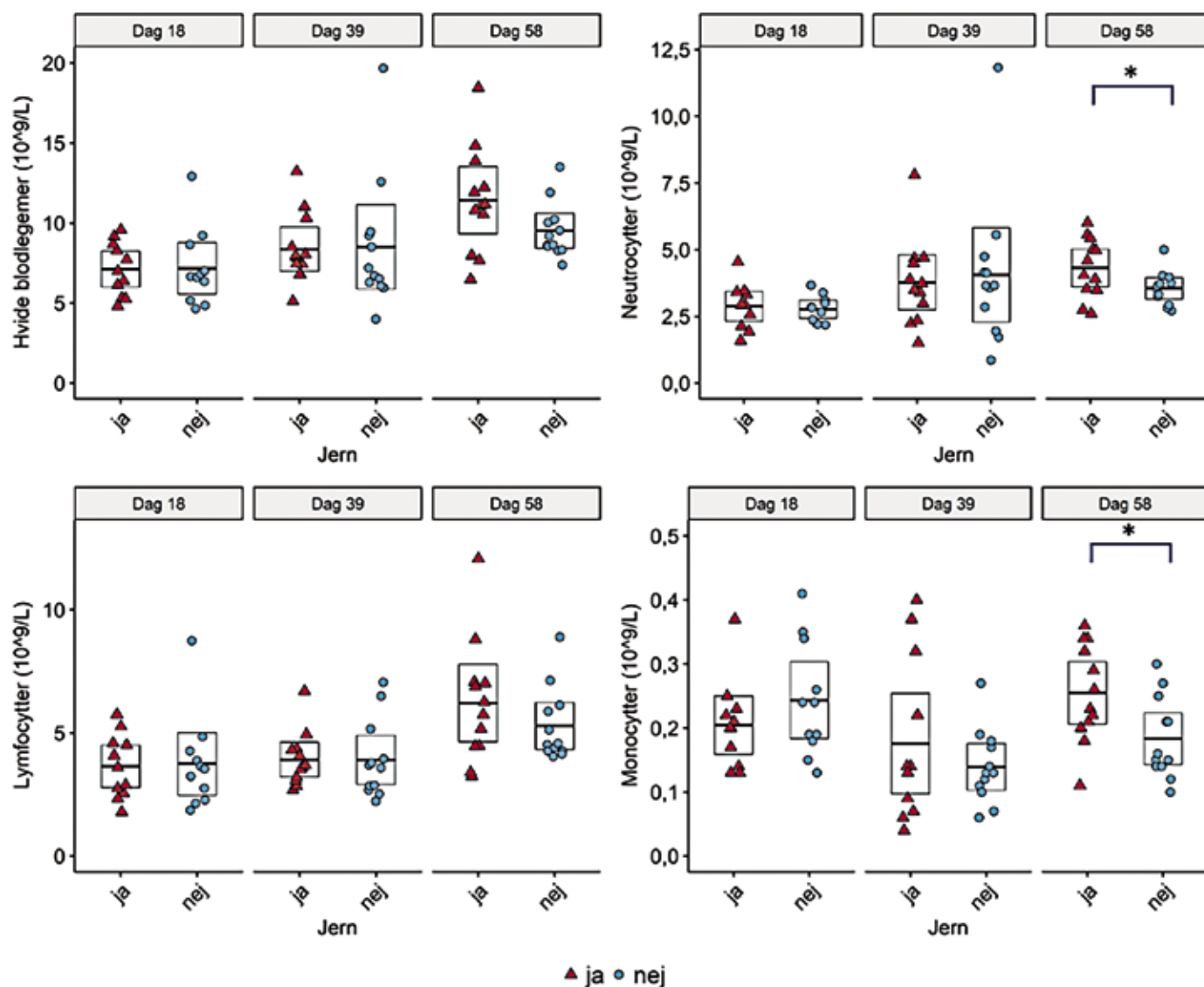
	ANTAL DYR	-JERN	+JERN	SEM	P-VÆRDI
Dag 18:					
HGB, g/100 mL	22	9,74	10,37	0,17	0,03
Fe lever, mg/g tørstof	22	0,42	1,33	0,04	<0,0001
Total Fe lever, mg	22	0,69	2,24	0,08	<0,0001
Lever, g	22	4,82	4,77	0,16	0,85
Lever, tørstof %	22	34,63	35,33	0,49	0,34
Levervægt: kropsvægt	22	0,042	0,042	0,001	0,76
Dag 39: HGB, g/100 mL	24	10,30	10,75	0,20	0,15
Dag 58: HGB, g/100 mL	24	13,30	12,99	0,26	0,42

Det ses i Figur 2, at hunhvalpene havde et højere antal af hvide blodlegemer og lymfocytter dag 58 i forhold til hanhvalpene. Derudover havde hunhvalpene et højere antal af neutrocytter dag 39. Dag 186 er det omvendt, hvor hanhvalpene har et højere antal af hvide blodlegemer, neutrocytter, lymfocytter og monocytter end hunhvalpene. Antallet af celler ligger dog inden for de normalværdier, der tidligere er målt for raske dyr i mårfamilien (Weiss et al., 1994, Mazet et al., 2000, Weiss et al., 2010). Fra mennesker og andre dyrearter vides det, at hankøn er mere modtagelige overfor infektioner end hunkøn, hvilket til dels kan skyldes hormonelle forskelle imellem kønnene (Klein, 2000; Shuurs & Verheul, 1990), samt et højere antal hvide blodlegemer hos hunner, idet dette er observeret hos ildere (Weiss et al., 2010). Tidligere studier i hamstrer har vist, at antallet af timer med sollys i løbet af dagen desuden kan påvirke mængden af hvide blodlegemer, hvor antallet af celler især blev opreguleret hos hannerne i vinterperioden med korte dage (Bilbo et al., 2003). Dette kan måske forklare det højere antal af hvide blodlegemer hos hanhvalpene end hunhvalpene set ved dag 186 (november). Det ses desuden, at antallet af hvide blodlegemer og lymfocytter stiger indtil dag 58 for derefter at falde igen. Dette ses også hos katten, et andet rovdyr i samme familie som mink (Weiss et al., 2010), og er et udtryk for udvikling af immunsystemet.

Effekt af behandling (-/+ jern) på hæmoglobin og jernindhold i leveren er angivet i Tabel 4. Hvalpe injiceret med jern havde et signifikant højere jernindhold i leveren dag 18 efter fødsel, hvilket skyldes, at jern hovedsageligt lagres i leveren (Dallman, 1986). Forskellen mellem total jern i lever, når hvalpene blev injiceret med jern i forhold til saltvand var 1,55 mg, hvilket tyder på, at størstedelen af de 2 mg injiceret jern blev deponeret i leveren. Der var ikke forskel på levervægt og forholdet levervægt: kropsvægt mellem behandlinger.

Hvalpe injiceret med jern havde et signifikant højere hæmoglobinniveau (6,5%) dag 18 efter fødsel i forhold til hvalpe injiceret med saltvand, men ikke dag 39 og 58 efter fødsel (Tabel 4). Til sammenligning viste forsøg med pattegrise, at en injektion med 200 mg jern dag 3 efter fødsel resulterede i en betydelig større stigning i hæmoglobin (84%; Sørensen, 1991). I samme forsøg blev der hos ikke-

jerninjicerede pattegrise, observeret en stigning i hæmoglobin i takt med, at grisene begyndte at optage fast foder (Sørensen, 1991), nøjagtig som vist for minkhvalpe i Figur 1 og i det aktuelle forsøg. De ikke-jerninjicerede grise opnåede dog først samme hæmoglobinniveau, som de jerninjicerede grise omkring dag 60 efter fødsel (Sørensen 1991). Et andet forsøg viste, at pattegrise injiceret med 200 mg jern dag 16 sammenlignet med dag 3 efter fødsel havde et signifikant lavere hæmoglobinniveau dag 8, 16 og 22 efter fødsel, hvilket viser, at tidspunktet for injektionen er afgørende for effekten (Svoboda et al. 2008). Kurveforløbet for blodets hæmoglobinindhold hos minkhvalpe efter fødsel (Figur 1 og Tabel 3) svarer til kurveforløbet observeret hos pattegrise, hvor injektion med jern dag 3 efter fødsel har størst effekt. Grundet det sammenlignelige kurveforløb for minkhvalpe og pattegrise forventes det, at injektionstidspunktet dag 3 var det rette for at opnå største effekt hos minkhvalpene. Derimod var den injicerede jern dosis sandsynligvis for lav i forhold til minkhvalpenes behov pga. deres relativ større tilvækst sammenlignet med pattegrise, hvilket diskuteres nedenfor i relation til resultaterne i Tabel 5. I det aktuelle forsøg var standard error of the mean (SEM) for hæmoglobin generelt større dag 39 og 58 i forhold til dag 18 (Tabel 3 og 4), formentlig pga. en betydelig variation i hvalpenes optag af fast foder og dermed jernforsyning, når de begynder at æde fra dag 28. Sammenlignes hæmoglobinniveauerne i Figur 1 med dette forsøgs hæmoglobinniveauer (Tabel 3 og 4), ses det, at det aktuelle forsøgs hæmoglobinniveauer er lavere især dag 18 (1-2 g/100 mL), men også lidt lavere dag 39, hvor hvalpene kun har fået tildelt fast foder i 11 dage. Derimod ligger hæmoglobin dag 58, 107 og 186 på samme niveau eller over niveauet i Figur 1. Dette viser, at hæmoglobinniveauet hos hvalpene i det aktuelle forsøg kun var lavere i forhold til niveauet i Figur 1 i perioden, hvor hvalpene helt (dag 18) eller delvis (dag 39) ernæres via mælk fra hunnen. Skrede (1970) observerede en negativ korrelation mellem kuldstørrelse og hvalpenes hæmoglobinkoncentration ved fravæning. En mulig forklaring på hæmoglobinforskellene dag 18 og 39 mellem det aktuelle forsøg og forsøget af Skrede (1970) kunne derfor være forskelle i kuldstørrelse mellem forsøgene, idet kuldstørrelsen i det aktuelle forsøg var 8 dag 18 og 7 dag 39, mens den gennemsnitlige kuldstørrelse var 3,59 i forsøget af Skrede (1970).



FIGUR 3 EFFEKT AF BEHANDLING (-/+ JERN) PÅ IMMUNCELLER I BLODET DAG 18, 39 OG 58 EFTER FØDSEL. RESULTATERNE ER VIST SOM GENNEMSNIT MED 95% KONFIDENSINTERVAL OG DE INDIVIDUELLE VÆRDIER INDTEGNET. * ANGIVER AT P-VÆRDIEN ER MINDRE END 0,05.

Figur 3 viser, at injektion med 2 mg jern dag 3 efter fødsel medfører et forhøjet antal af monocytter og neutrocytter på dag 58 efter fødsel. Antallet af celler ligger inden for de normalværdier, der tidligere er målt for raske dyr i mårfamilien (Weiss et al., 1994, Mazet et al., 2000, Weiss et al., 2010). Det er kendt, at jernmangel fører til større modtagelighed overfor infektioner (Cherayil, 2010). Det forhøjede antal af monocytter og neutrocytter kan derfor være positivt for minkhvalpene, idet det måske kan medføre mindre modtagelighed overfor infektioner. Et tidligere forsøg med 108 pattegrise viste, at det totale antal af hvide blodlegemer var større i grise (16 vs. 12 x 10³ celler/ μ L), der fik injiceret 400 mg jern 3 dage efter fødsel i forhold til grise, der ikke fik jern (Kleinbeck & McGlone, 1999). Derudover viste forsøget, at mængden af injiceret jern (100 mg vs. 400 mg jern) havde indflydelse på procentfordelingen af hvide blodlegemer med højere procentdel for neutrocytter (36 vs. 48%) og monocytter (2,0 vs. 2,5%) (Kleinbeck & McGlone, 1999).

Tabel 5 viser effekt af køn og behandling (-/+ jern) på tilvæksten. Som forventet havde hanhvalpene en signifikant højere tilvækst i forhold til hunhvalpene, hvorimod der ikke var forskel mellem behandlinger. Forsøg med pattegrise viser, at injektion med 200 mg jern dag 3 efter fødsel øger den daglige tilvækst frem til fravænningsdag 28 med over 20% (Sørensen, 1991; Stojanac et al., 2016). Forsøget af Stojanac et al. [2016] viste også, at dødeligheden blev reduceret fra 9,3 til 8,7% dag 3-28 efter fødsel og fra 5,2 til 3,2% dag 29-70 efter fødsel ved injektion med jern. Et andet forsøg med grise viste, at tidspunktet for jerninjektionen er afgørende for effekten på tilvæksten, idet injektion med 200 mg jern dag 16 i forhold til dag 3 efter fødsel resulterede i lavere vægt på 19, 26, 25 og 18% hhv. dag 16, 22, 29 og 36 efter fødsel (Svoboda et al. 2008). I det aktuelle forsøg blev minkhvalpene injiceret med en jerdosis svarende til dosis per gram kropsvægt anvendt til pattegrise dag 3 efter fødsel. Minkhvalpe har imidlertid en langt højere tilvækst end pattegrise, idet minkhvalpe

TABEL 5. EFFEKT AF KØN OG BEHANDLING (-/+ JERN) PÅ TILVÆKST

		ANTAL DYR	HAN		HUN		SEM	P-VÆRDI		
			-JERN	+JERN	-JERN	+JERN		KØN	BEH	KØN X BEH
Tilv. dag	3-18, g	187	101,4	101,4	94,1	94,2	0,9	<0,0001	0,90	0,92
Tilv. dag	18-39, g	136	242,6	233,0	213,8	212,3	6,3	<0,0001	0,30	0,49
Tilv. dag	39-58, g	140	636,6	615,3	458,0	473,5	11,1	<0,0001	0,76	0,08
Tilv. dag	58-103, g	134	1398	1386	772	802	25	<0,0001	0,67	0,36
Tilv. dag	103-143, g	133	1208	1137	478	528	27	<0,0001	0,66	0,02
Tilv. dag	143-186, g	130	436	479	122	162	30	<0,0001	0,10	0,94
Tilv. dag	3-186, g	131	4047	3938	2116	2266	68	<0,0001	0,72	0,04

fra dag 0 til dag 3 efter fødsel lige knapt fordobler deres kropsvægt, mens de fra dag 0 til 28 og dag 3 til 28 øger deres kropsvægt med hhv. 20 og 11 gange. Til sammenligning øger pattegrise deres kropsvægt med 23% fra dag 0 til 3 efter fødsel og med knapt 5 og 4 gange hhv. fra dag 0 til 28 og fra dag 3 til 28 (Sørensen, 1991; Nielsen & Kring, 2002). Det er derfor sandsynligt, at den manglende effekt af jern på minkhvalpenes tilvækst i dette forsøg skyldes, at minkhvalpe har brug for en højere dosis jern per gram kropsvægt i forhold til pattegrise pga. den betydelig højere relative tilvækst. Dette menes ligeledes at kunne forklare den manglende effekt af jerninjektionen på hæmoglobin, total antal hvide blodlegemer og lymfocytter hos minkhvalpene dag 39 og 58 samt den relativ lave procentuelle stigning i hæmoglobin dag 18 sammenlignet med den procentuelle stigning i hæmoglobin ved injicering af pattegrise med jern beskrevet ovenfor.

I det aktuelle forsøg blev der fundet en vekselvirkning mellem køn og behandling på tilvæksten dag 103-143 og 3-186 samt en tendens dag 39-58 (Tabel 5). Biologisk set er det svært at forklare, at en injektion med 2 mg jern dag 3 efter fødsel skulle kunne påvirke hanhvalpes tilvækst negativt og ligeledes hunhvalpenes tilvækst positivt så lang tid efter, at injektionen er givet. Ligeledes bør det bemærkes, at jerninjicerede hanhvalpene havde en numerisk højere tilvækst dag 143-186 i forhold til ikke-jerninjicerede hanhvalpe. For at verificere om vekselvirkningen mellem køn og behandling er reel, kræver det gennemførsel af yderligere forsøg.

Konklusion

Forsøget viste, at hunhvalpe havde et signifikant højere hæmoglobinniveau i forhold til hanhvalpe dag 18 efter fødsel, hvilket formentlig skyldes hunhvalpenes lavere vækst i forhold til hanhvalpene. Derudover havde hunnerne et signifikant højere antal neutrocytter dag 39 samt et signifikant højere antal hvide blodceller og lymfocytter dag 58 i forhold til hannerne, hvilket indikerer, at hannerne indtil denne dag er mere modtagelig overfor infektioner end hunner. Injektion med 2 mg jern dag 3 efter fødsel resulterede i en stigning i hæmoglobin dag 18, men ikke dag 39 og 58. Injektion med jern bevirkede også en stigning i jernindholdet i lever dag 18, men havde ingen effekt

på tilvækst frem til dag 103. Herefter blev der observeret vekselvirkning mellem køn og behandling (-/+ jern) på tilvæksten, men hvorvidt dette er en reel vekselvirkning bør undersøges i yderligere forsøg. Injektion med jern resulterede i et signifikant højere antal neutrocytter og monocytter dag 58, hvilket kan medføre mindre modtagelighed overfor infektioner. Ingen effekt af jerninjektion blev set på det totale antal af hvide blodlegemer og lymfocytter. Forsøg med pattegrise viser, at dosis, men også tidspunktet for hvornår jerninjektionen gives, er afgørende for effekten. Kurveforløbet for udviklingen i blodets hæmoglobinindhold hos minkhvalpe (Figur 1) svarer til kurveforløbet observeret hos pattegrise, hvor forsøg viser, at injektion med jern dag 3 efter fødsel har størst effekt. På grund af denne sammenlignelighed forventes det, at injektion med jern dag 3 også har største effekt hos minkhvalpe. Derimod er det sandsynligt, at den anvendte jerdosis i det aktuelle forsøg var for lav i forhold til hvalpenes behov. Hvalpene blev injiceret med en jerdosis per gram kropsvægt svarende til dosis anvendt til pattegrise dag 3 efter fødsel. En minkhvalp har imidlertid en betragtelig relativ større tilvækst i forhold til pattegrise. Det betyder, at den anvendte jerdosis per gram tilvækst var betydelig mindre for minkhvalpene sammenlignet med pattegrise, hvilket antagelig er forklaringen på den manglende effekt af jern på tilvæksten, men også hæmoglobin dag 39 og 58 samt hvide blodlegemer og lymfocytter. Der er derfor behov for at gennemføre forsøg med højere jerdoser for at verificere dette.

Anerkendelse

Projektet er støttet økonomisk af Pelsdyrafgiftsfonden og Forskningsfonden. Projektet er gennemført på Københavns Fur farm som et samarbejde med Aarhus Universitet og København Fur Forskning.

Referencer

- Blaabjerg, K., Clausen, T.N., Kjærup, R.B., Steensgaard, I.B. & Larsen, P.F. (2018a). Iron supplementation to mink kits at day three after birth. NJF Seminar 505, Autumn meeting in fur animals research 2018. Malmö 3-5 October 2018, pp. 36-44.
- Blaabjerg, K., Clausen, T.N., Kjærup, R.B., Steensgaard, I.B. & Larsen, P.F. (2018a). Jerntilskud til minkhvalpe dag 3 efter fødsel. Temadag om aktuel minkforskning. DCA rapport nr. 129 september 2018, pp. 6-13.
- Bilbo, S.D., Dhabhar, F.S., Viswanathan, K., Saul, A., Nelson, R.J. (2003). Photoperiod affects the expression of sex and species differences in leukocyte number and leukocyte trafficking in congeneric hamsters. *Psychoneuroendocrinology* 28(8):1027-43.
- Cherayil, B. J. (2010). "Iron and immunity: immunological consequences of iron deficiency and overload." *Arch Immunol Ther Exp* 58(6): 407-415.
- Dallman, P. R. (1986). Biochemical basis for the manifestation of iron deficiency. *Annual Review of Nutrition*. 6: 13-40.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01
- Huber, P. J. (1973). "Robust Regression: Asymptotics, Conjectures, and Monte Carlo." *Annals of Statistics*. 1:799-821.
- Klein, S. L. (2000). "The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior." *Neurosci Biobehav Rev* 24(6): 627-638.
- Kleinbeck, S. N. and J. J. McGlone (1999). Intensive indoor versus outdoor swine production systems: genotype and supplemental iron effects on blood hemoglobin and selected immune measures in young pigs. *J Anim Sci* 77(9): 2384-2390.
- Kopenhagen Fur (2018). Internt ontat: Forsøgsoplæg vedr. jerninjektion af minkhvalpe.
- Lenth, R.V. (2016). Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *Journal of Statistical Software*, 69(1), 1-33. doi:10.18637/jss.v069.i01
- Mazet, J.K., Gardner, I.A., Jessup, D.A., Lowenstine, L.J. and Boyce, W.M. (2000). Evaluation of changes in hematologic and clinical biochemical values after exposure to petroleum products in mink (*Mustela vison*) as a model for assessment of sea otters (*Enhydra lutris*). *Am J Vet Res* 61, 1197-1203.
- Nielsen & Kring (2002). Fødselsvægtens indflydelse på tilvæksten. Meddelelse nr. 583. Den rullende afprøvning.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D., R Core Team (2018). *_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_*. R package version 3.1-137, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Rahmani, S. and Demmouche, A. (2015). Iron deficiency anemia in children and alteration of the immune system. *J Nutr Food Sci* 2015, 5:1
- RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- SAS Institute Inc., 2004. SAS/STAT® 9.1 user's guide. The MIXED procedure. Cary, NC, USA.
- Schuurs, A. H. and H. A. Verheul (1990). "Effects of gender and sex steroids on the immune response." *J Steroid Biochem* 35(2): 157-172.
- Seges Svineproduktion (2017). <https://svineproduktion.dk/Viden/I-stalden/Management/Faring/Jernbehandling>
- Skrede, A. (1970). Normal variations in the haemoglobin concentration in mink blood. *Acta Agriculturae Scandinavica*. 20:257-264.
- Stojanac, N., Stevancevic, O., Cincovic, M., Belic, B., Plavsa, N., Urosevic, M. (2016). Effects of Iron Administration Method on Anemia Prevention and Production Performance of Piglets. *Acta Scientiae Veterinariae*. 44:1361. 1-8.
- Svoboda, M., Ficek, R., Drabek, J. (2008). "Reticulocyte indices in the diagnosis of iron deficiency in suckling piglets." *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 52:125-130.
- Sørensen, G. (1991). Jern til smågrise. Meddelelse nr. 203. Den rullende afprøvning.
- Halekoh, U. and Højsgaard, S. (2014). A Kenward-Roger Approximation and Parametric Bootstrap Methods for Tests in Linear Mixed Models - The R Package pbkrtest. *Journal of Statistical Software*, 59(9), 1-30. URL <http://www.jstatsoft.org/v59/i09/>
- Weiss DJ, Wardrop KJ and Schalm OW 2010. Schalm's veterinary hematology. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.
- Weiss, D.J., Wustenberg, W., Bucci, T.J. and Perman, V. (1994). Hematologic and Serum Chemistry Reference Values for Adult Brown Mink. *Journal of Wildlife Diseases* 30, 599-602. ✕

Ernæring og fodring

ALPHASOY PREMIUM OG MALTODEXTRIN TIL 4 TIL 8 UGER GAMLE MINKHVALPE

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge hvorvidt Maltodextrin og Premium SPC 68 (Triple A) har en positiv effekt på hvalpenes vækst i den sidste del af dieperioden. I forsøget indgik tre hold med 61 – 74 brune hunner med kuld født i perioden 26. april til 2. maj og med kuldstørrelse 6 – 10. Til det ene forsøgshold (PREM) blev AlfaSoy Premium anvendt til at øge protein fordøjeligheden ved at erstatte en del af det affedtede fjerkræ i kontrolholdet (KON). Til det andet forsøgshold (MALTO) blev Maltodextrin anvendt i stedet for en andel af byg-hvede blandingen i KON for at øge kulhydrat fordøjeligheden.

Der blev i denne undersøgelse ikke set en effekt på hvalpenes tilvækst i perioden dag 28 til dag 56 ved at anvende et højt fordøjeligt soyaprodukt (AlphaSoy Premium) i stedet for en del af det affedtet fjerkræ eller et højt fordøjeligt kulhydrat (Maltodextrin) i stedet for en del af byg-hvede blandingen.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. AlphaSoy Premium og Maltodextrin til 4 til 8 uger gamle minkhvalpe. Faglig Årsberetning 2018, 51-54. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: kropsvægt, protein fordøjelighed, kulhydrat fordøjelighed, dieperiode

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate whether Maltodextrin and Premium SPC 68 (Triple A) has a positive influence on kit growth in the last part of the lactation period. The experiment comprised three groups of 61 – 74 brown females with litters born in the period April 26 to May 2 and with 6 – 10 kits per litter. To one of the groups (PREM) AlfaSoy Premium was used to increase protein digestibility by replacing some of the high-pressure defatted poultry byproduct in the control group (KON). To the second group (MALTO) Maltodextrin was used to replace some of the barley-wheat mixture in KON to increase carbohydrate digestibility. In this experiment we observed no effects on the growth of kits in the period from day 28 to day 56 by using a high digestible soybean product (AlphaSoy Premium) instead of some of the high-pressure de-

fatted poultry and highly digestible carbohydrate (Maltodextrin) instead of some of the barley and wheat.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. AlphaSoy Premium and Maltodextrin to 4 to 8 weeks old mink kits. Annual Report 2018, 51-54. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: body weight, protein digestibility, carbohydrate digestibility, lactation period.

Indledning

Når hvalpene begynder at æde er deres fordøjelighedssystem ikke fuldt udviklet (Elnif og Hansen; 1987; 1988), og det er derfor væsentligt, at hvalpe får så letfordøjeligt et foder som muligt. Der anvendes i dieperioden 8 – 10% kornprodukter i foderet. Den målte kulhydrat fordøjelighed af disse kornprodukter er lav hos udvoksede mink (70% for byg og 76% for hvede), og formodentlig endnu lavere hos hvalpe. Ligeledes er proteinråvarer med en høj protein fordøjelighed væsentlige for hvalpenes tilvækst og sundhed. For at belaste hvalpenes fordøjelsessystem mindst muligt, når de begynder at æde, ville det således være en fordel med mere letfordøjelige råvarer. Premium SPC 68 (AlfaSoy premium) er et special behandlet soya protein produkt med høj protein fordøjelighed (90%). Maltodextrin er et hvidt krystalagtigt smagsløst pulver bestående af glukoseenheder. Kulhydrat fordøjeligheden af maltodextrin er høj (96%), og produktet er således en meget lettilgængelig energikilde for minkhvalpe. En undersøgelse af forskellige kulhydratkilder i perioden 22. feb. til fravænning (Clausen et al., 2003) viste de numerisk bedste hvalpevægte ved majsstivelse (FKk 93%) frem for byg og hvede. Derimod havde Startex 100 (FKk 96% og høj vandbindingsevne) negativ effekt på hvalpenes tilvækst fra dag 28 til dag 42, sandsynligvis på grund af mindre vandblanding og dermed højere fodertørstof end planlagt (Clausen et al., 2019).

For at undersøge hvorvidt Maltodextrin og Premium SPC 68 (Triple A) har en positiv effekt for hvalpenes tidlige vækst afprøves disse produkter til hvalpe i den sidste del af dieperioden.

Materiale og metoder

I forsøget indgik 3 hold á hhv. 74, 61 og 67 kuld født i perioden 26. april til 2. maj. Hunnerne blev behandlet ens gennem vinterperioden samt fodret med fodercentralfoder fra 31. marts. Fra 17. maj til 27. maj blev der foretaget en overgang til forsøgsfoder ved gradvis stigende iblanding af forsøgsfoder i fodercentralfoderet. Fodersammensætningen i kontrolholdet (KON) var grundblandingen (Tabel 1), til maltodextrin holdet (MALTO) blev anvendt 2,5% maltodextrin, hvor maltodextrin var i stedet for en tilsvarende andel af byg-hvede blandingen i kontrolfoderet (KON). I Premium holdet (PREM) blev anvendt 3% Premium, hvor Premium var i stedet for en del af det affedtede fjerkræ i kontrolfoderet.

Hunnerne blev vejet dag 28, 42 og dag 56. Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28, 42, og 56. Fra dag 28 til dag 56 blev døde dyr indsamlet og obduceret. Kuld født i perioden 26. april til 2. maj med 6 – 10 hvalpe blev vejet dag 28, 42 og dag 56. Dag 42 blev foretaget deling af store kuld i henhold til Clausen & Larsen (2015). Hvalpevægtene dag 56 er opgjort som et gennemsnit af alle hunnens hvalpe.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med procedurerne PROBIT og χ^2 .

TABEL 1 FODERPLANER TIL DIEPERIODEN 2017 MED IBLANDING AF 3% PREMIUM (PREM) ELLER 2,5% MALTODEXTRIN (MALTO). PROCENTINDHOLD I FODERET

	KON	PREM	MALTO
Fiskeafskær 3-5 % fedt	35	35,0	35,0
Industrifisk 8-12 % fedt	24,3	24,4	24,4
Affedtet fjerkræ	20	10,0	20,0
Ensilage helfisk svovlsyre	3,0	3,0	3,0
Byg + Hvede	8,36	8,32	4,56
Hæmoglobinmel	2,34	1,70	2,55
Kartoffel protein	0,95	1,03	1,70
Majsgluten	2,70	2,70	2,70
Soyaolie	2,14	2,33	2,29
Svinefedt	1,07	1,16	1,14
Maltodextrin			2,50
Alfasoy Premium		3,0	
Vitamin-mineral bl. α	0,2	0,20	0,20
Vand		7,16	
PLANTAL			
Tørstof, %	34	34	34
Aske, %	3,1	2,9	3,1
Energi kcal / 100 g	146	145	150
Energifordeling P:F:K	45:40:15	45:40:15	45:40:15
FKp, %	85,4	86,3	85,6
FKk, %	69,2	65,1	76,3

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMENSÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER 2016 (TEAM FODER, 2016); α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 12.500 MG B1-VITAMIN; 4.000 MG B2-VITAMIN; 4.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 8.000 MG NIACIN; 60.000 MG COLINEXTRA; 500 MG FOLINSYRE; 100 MG BIOTIN; 25 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU;

Resultater og diskussion

Alle hunner blev behandlet ens indtil foderskifte i maj. Der var ikke signifikant forskel i hvalperesultatet ved fødsel, men dag 28 var der forskel (Tabel 2). Det skyldtes en lidt højere dødelighed i MALTO holdet fra fødsel til dag 28. Denne forskel burde ikke skyldes foderet, idet foderskiftet først var omkring dag 28. Selve overgangen til for-

søgsfoder skete dog i perioden d 17. til 27. maj og hunnerens fødselsdato varierede lidt, således at de hunner der fødte senest fik rent forsøgsfoder fra dag 25 og de hunner der fødte tidligst fik det fra dag 31. Forskellen i kuldstørrelse holdt sig resten af perioden, og der var ikke forskel i dødeligheden fra dag 28 til dag 56 (Tabel 3).

TABEL 2 KULDSTØRRELSE

HOLD	ANTAL KULD	LEVENDE V. FØDSEL	DØDE V. FØDSEL	DAG 28	DAG 42	DAG 56
KON	74	8,1 (1,7)	0,28 (0,71)	7,4 (1,8) ab	7,2 (2,0) a	6,9 (2,0) ab
PREM	61	8,4 (1,8)	0,21 (0,71)	7,8 (1,4) a	7,7 (1,5) a	7,4 (1,6) a
MALTO	67	8,3 (1,5)	0,39 (0,78)	7,1 (2,2) b	6,6 (2,4) b	6,5 (2,4) b
		NS	NS	0,05	0,002	0,008

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER FORSKEL MELLEML HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

TABEL 3 DØDELIGHED I HOLDENE

HOLD	HVALPE TAB PR KULD DAG 28 TIL DAG 56
KON	0,50 (1,23)
PREM	0,41 (0,90)
MALTO	0,64 (1,61)
	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER FORSKEL MELLEML HOLDENE

Der var ikke forskel i dødelighed og sygdom blandt hunnerne gennem forsøgsperioden. Der døde hhv. 2, 2 og 4 hunner i KON, PREM og MALTO i perioden fra fødsel til 30. juni. Hvalpenes vægtudvikling gennem forsøgsperioden fra dag 28 til dag 56 (Tabel 4), viste forskel for hunhvalpene

dag 28. Dette burde ikke skyldes forsøgspåvirkning, da forsøget først startede dag 28, men en vis påvirkning af vægten dag 28 kan ikke afvises, evt. som følge af smagsændringer i foderet i forbindelse med overgangen til rent forsøgsfoder.

TABEL 4 HVALPEVÆGTE GENNEM PERIODEN, GRAM

HOLD	HAN HVALPE DAG 28	HUN HVALPE DAG 28	HAN HVALPE DAG 42	HUN HVALPE DAG 42	HAN HVALPE DAG 56	HUN HVALPE DAG 56
KON	202 (36)	188 (35) a	390 (80)	346 (65)	772 (139)	660 (91)
PREM	192 (29)	176 (28) ab	375 (64)	336 (53)	746 (100)	654 (80)
MALTO	192 (36)	174 (31) b	385 (84)	343 (61)	747 (127)	653 (79)
	NS	0,05	NS	NS	NS	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER FORSKEL MELLEML HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Ved at se på tilvæksten i perioden dag 28 til dag 56 var der ikke forskel mellem holdene (Tabel 5).

TABEL 5 HVALPETILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 56, GRAM

HOLD	HANHVALPE	HUNHVALPE
KON	564 (116)	470 (67)
PREM	558 (80)	483 (61)
MALTO	557 (107)	479 (56)
	NS	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Hunnernes vægt var forskellig dag 28 og dag 42 (Tabel 6), evt. grundet en markant smagsforskel i foderet der kan

have påvirket hunnernes ædelyst i overgangsfasen. Der var ikke forskel i vægttabet gennem forsøgsperioden.

TABEL 6 HUNNERNES VÆGTUDVIKLING Gennem dieperioden, GRAM

HOLD	DAG 28	DAG 42	DAG 56	VÆGT TAB DAG 28 – 56
KON	1730 (167) a	1508 (187) a	1477 (216)	245 (132)
PREM	1663 (165) ab	1442 (184) a	1410 (188)	257 (139)
MALTO	1634 (235) b	1433 (171) b	1433 (190)	199 (223)
	0,01	0,005	NS	NS

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

En stigning i proteinfordøjeligheden på ca. en enhed fra KON til PREM, og en stigning i kulhydrat fordøjeligheden på ca. 7 enheder fra KON til MALTO, havde ingen positiv effekt på hvalpenes tilvækst. Andre undersøgelser i dieperioden af kulhydratkilder sammenlignet med en byg-hvede blanding viste numerisk bedste hvalpevægte ved majsstivelse (Clausen et al., 2003) hvorimod Startex 100 havde negativ effekt på hvalpenes tilvækst fra dag 28 til dag 42 (Clausen et al., 2019). Disse undersøgelser havde dog ikke foderskift i selve laktationsperioden.

Konklusion

Forsøget viste ingen påvirkning af hvalpenes tilvækst i perioden dag 28 til dag 56 ved at anvende et højt fordøjeligt soyaprodukt (AlphaSoy Premium) i stedet for en del af det affedtete fjerkræ eller høj fordøjeligt kulhydrat (Maltodextrin) i stedet for en del af byg-hvede blandingen.

Referencer

Clausen, T.N & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vision). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T.N., Byskov, K. & Larsen, P.F., 2019. Fodring af hunner og hvalpe i dieperioden med Startex 100 – en kulhydratkilde med høj fordøjelighed og vandbindingsevne. Faglig Årsberetning 2018, 64-69. København Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N., Hejlesen, C., Sørensen, H., Bjerregaard, C., Mortensen, K. & Christiansen, C., 2003. Kulhydratkilder til mink i dieperioden. Faglig Årsberetning 2002, 27-31. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Elnif J., Hansen N. E., 1987. Sammenligning af næringsstofferne fordøjelighed hos minkhvalpe og udvoksede hanner (pastel type). NFJ-Seminar 128, Tromsø

Elnif J., Hansen N. E., 1988. Production of Digestive Enzymes in Mink Kits. Biology, Pathology and Genetics of Fur Bearing Animals. Ed. Murphy B. D., 320-326

Team foder, 2016. anbefaling - gældende – minkfoders sammensætning 2016. Intern Rapport, København Rådgivning 2016.

SAS Institute Inc., 1996. SAS © System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp ✕

Ernæring og fodring

EFFEKT AF HØJ ANDEL FERSK FJERKRÆ, HØJTRYKSKOGT AFFEDTET FJERKRÆ ELLER FISKEAFSKÆR PÅ HVALPETILVÆKST I SIDSTE HALVDEL AF DIEGIVNINGSPERIODEN

Af Tove N. Clausen, Karoline Blaabjerg & Peter Foged Larsen
Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge effekterne af at fodre med højt fordøjelige eller lavt fordøjelige fjerkræbiprodukter i dieperioden. I forsøget indgik tre hold á 130 brune hunner med kuld født i perioden fra 27. april til 2. maj. Holdene blev fodret med tre forskellige foderblandinger fra 20. april til dag 42 efter fødsel. Kontrolholdet (KON) blev fodret med lav andel affedt fjerkræ (8%) kombineret med øget andel fiskeafskær (30%), andet hold (AFFJ) blev fodret med høj andel affedt fjerkræ (20%), og det tredje hold (ØLA) blev fodret med høj andel fersk fjerkræ (20% Øland).

Forsøget viste, at tildeling af fersk fjerkræ (20%) resulterede i signifikant højere tilvækst hos hanhvalpe og tendens til højere tilvækst hos hunhvalpe fra dag 28 til dag 42 i forhold til tildeling af højtrykskogt affedt fjerkræ (20%) eller øget fiskeafskær kombineret med højtrykskogt affedt fjerkræ (8%).

Clausen, T.N., Blaabjerg, K & Larsen, P.F., 2019. Effekt af høj andel fersk fjerkræ, højtrykskogt affedt fjerkræ eller fiskeafskær på hvalpetilvækst i sidste halvdel af diegivningsperioden. Faglig Årsberetning 2018, 55-59. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: fersk fjerkræ, højtrykskogt affedt fjerkræ, dieperiode, kropsvægt, kuldstørrelse, hvalpeoverlevelse.

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate the effect of feeding with highly digestible or low digestible poultry byproducts during the lactation period. The experiment comprised three groups of 130 brown females with litters born in the period April 27 to May 5. The three groups were fed three different diets from April 20 to day 42 after birth. The control group (KON) was fed a low level of high-pressure defatted poultry (8%) in combination with an increased level of fish offal, the second group

(AFFJ) was fed a high level of high-pressure defatted poultry (20%), and the third group (ØLA) was fed a high level of raw poultry by-product (20% Øland).

The experiment showed that feeding with raw poultry by-product (20%) resulted in a significant higher growth rate in male kits and a tendency to a higher growth rate in female kits from day 28 to day 42 compared to feeding with high-pressure defatted poultry (20%) or increased fish offal in combination with high-pressure defatted poultry (8%).

Clausen, T.N., Blaabjerg, K & Larsen, P.F., 2019. Impact of high proportion of fresh poultry, high-pressure boiled defatted poultry or fish offal on mink kit body growth in the last half of the lactation period. Annual Report 2018, 55-59. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: high-pressure defatted poultry, raw poultry, lactation period, body weight, litter size, kit survival.

Indledning

Tidligere forsøg med stigende indhold af dansk varmebehandlet fjerkræ i foder til dieperioden viser varierende resultater. Et forsøg gennemført i vinter og dieperioden viste faldende hvalpevægte med stigende iblanding af højtrykskogt fjerkræ (11-20-29-38%; Therkildsen & Clausen, 1994). Et andet tilsvarende forsøg (7,6 – 18 – 22,6 – 27,5 – 33,5 – 38,8% iblanding) viste reduceret hvalpevægt, men først ved over 30 % højtrykskogt fjerkræ (Clausen et al., 1994). Der findes flere forskellige fjerkræprodukter på markedet, men råvareudgangspunktet er kritisk mht. kemisk og bakteriologisk kvalitet og sammensætning. Procesbehandlingen er for det meste frysning, syring eller varmebehandling, men ændres jævnlige, især tid og temperatur ved varmebehandlingen. Varmebehandling af råvaren har imidlertid en negativ indflydelse på varens smag og proteinfordøjelighed.

Dieperioden er meget væsentlig for, hvorledes det senere går dyrene. Derfor er det afgørende at anvende de bedste råvarer til foderproduktionen i dieperioden, for at sikre et godt og stabilt foder samt et højt energiindtag hos både hunner og hvalpe. Formålet med forsøget var derfor at undersøge effekterne af at fodre med højt fordøjelige eller lavt fordøjelige fjerkræbiprodukter i dieperioden, hvilket blev gjort ved at tildele dyrene ferskt fjerkræ eller højtrykskogt affedt fjerkræ fra 20. april til dag 42 efter fødsel.

Materiale og metoder

I forsøget indgik tre hold á 130 brune hunner med kuld født i perioden fra 27. april til 2. maj. Holdene blev fodret med tre forskellige foderblandinger fra 20. april til dag 42 efter fødsel (Tabel 1). Kontrolholdet (KON) blev fodret med lav andel affedt fjerkræ og øget andel fiskeafskær, det andet hold (AFFJ) blev fodret med høj andel affedt fjerkræ og det tredje hold (ØLA) blev fodret med høj andel ferskt fjerkræ (Øland). Proteinfordøjelighedskoefficienten (FKp) var over 85% i alle hold (Tabel 1). Affedt fjerkræ er et varmebehandlet fjerkræbiprodukt af godkendt fjerkræ (kat 3 vare). Produktet indeholder fjer, som hydrolyseres ved 133°C og 3 Bar i 20 min, før de blandes med de

opvarmede bløde bestanddele og koges yderligere (FKp 70%). Øland er godkendte slagte biprodukter (uden fjer) fra et fjerkræslagteri (kat 3 vare). Produktet nedfryses straks efter slagteprocessen (indenfor ca. 30 min) (FKp 87,5%). De tre foderblandinger blev jævnligt kontrolleret ved analyse af kemiske og bakteriologiske kvalitetsparametre. Hunnerne blev fodret på buret hele perioden, hvalpene blev fra dag 28 fodret på redekassen med så meget vand i foderet som muligt.

Anden års hunner blev vejet 1. nov., unghunner blev vejet ved sortering 6. nov., alle hunner blev dernæst vejet 19. dec., 29. jan., 20. feb., samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, samt talt og vejet dag 28 og dag 42. Døde dyr blev indsamlet og obduceret. Sygdomme, flyttede hvalpe, bid samt anvendelse af kaninvandflasker blev noteret. Dag 42 blev foretaget individuel fravænnning af store kuld (Clausen & Larsen, 2015).

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med proceduren Probit.

TABEL 1 FODERSAMMENSÆTNING FRA 20. APRIL TIL DAG 42 EFTER FØDSEL I HOLD MED 20% AFFDET FJERKRÆ (AFFJ), 20% ØLAND (ØLA) ELLER 8 % AFFDET FJERKRÆ (KON), PROCENT IBLANDING I FODERET.

	AFFJ	ØLA	KON
Fiskeafskær	20	20	30
Industrifisk	37,6	40,3	39,0
Fiskeensilage	3	3	3
Affedt fjerkræ	20		8
Øland		20	
Byg / hvede	5,94	6,20	6,14
Fiskemel	3	3	3
Hæmoglobinmel	3	3	3
Kartoffelprotein	1,1	1,5	2
Majsgluten	2,98	2,20	1,81
Soyaolie	2,1	0,4	2,59
Svinefedt	1,05	0,2	1,3
Vit.-bl. α	0,2	0,2	0,2
Vand			
PLANTAL			
Tørstof, %	36	36	36
Energiindhold, g/100 kcal	167	168	166
Energifordeling P:F:K	45:45,2:9,8	45:45,2:9,8	45:45,2:9,8
FKp %	85,2	86,9	85,9
ANALYSETAL			
Tørstof, %	34,9	35,2	35,4
Energiindhold, g/100 kcal	157	159	159
Energifordeling P:F:K	44,8:45,7:9,5	46:44,5:9,5	44,5:45,5:10

DER BLEV FRA STARTEN AF MAJ TILSAT SALT OP TIL ET INDHOLD PÅ 0,42 G / 100 Kcal; MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMEN- SÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2018 (TEAMFODER, 2017); α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 12.500 MG B1-VITAMIN; 4.000 MG B2-VITAMIN; 4.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 8.000 MG NIACIN; 60.000 MG COLINEX- TRA; 500 MG FOLINSYRE; 100 MG BIOTIN; 25 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU.

Resultater og diskussion

Analysen af foderet viste pæn overensstemmelse mellem de analyserede og de planlagte værdier (Tabel 1). Andelen af fordøjeligt protein fra fjerkræ var i de tre hold AFFJ, ØLA og KON på hhv. 16,5, 13,5 og 6,6%. Analyser af foderets aminosyresammensætning viste, at KON foderet overholdt anbefalingerne (Teamfoder, 2017), ØLA var lidt under i cys og AFFJ var lidt under i cys, phe, tyr, ile og val. Analyse af foderets fedtsyresammensætning viste, at forholdet mellem $\omega 6:\omega 3$ var 1,8 ØLA, 2,2 i AFFJ og 2,3 i KON. ØLA indeholdt således den laveste andel af de essentielle fedtsyrer linol- og linolensyre.

Hunnerne blev fodret med fodercentralfoder indtil 20. april, og der var ikke signifikant forskel i vinterperiodens vægte mellem hold. Ved sortering i november vejede unghunnerne omkring 2,1 kg mod 1,9 kg hos ældre hunner. Den 19. dec. var gennemsnitsvægten omkring 1,8 kg, og fra slutningen af jan. til 20. feb. vejede hunnerne i gennemsnit omkring 1,25 kg. Der var dog et lidt større vægttab i perioden 19. dec. til 29. jan. i KON frem for de øvrige hold (533, 542 og 578 gram for hhv. AFFJ, ØLA og KON).

Hunnernes huld ved fødsel var 3,04 – 3,07 (huld vurderet ud fra metode udviklet af Hynes et al., 2004). Antal hvalpe ved fødsel, dag 28 og dag 42 samt hvalpetabet gennem dieperioden (Tabel 2 og 3), var ikke signifikant forskellig mellem holdene.

TABEL 2 ANTAL HVALPE PR KULD VED FØDSEL, DAG 28 OG DAG 42 SAMT ANTAL DØDE HVALPE PR KULD VED FØDSEL

HOLD	ANTAL KULD	LEVENDE VED FØDSEL		DØDE VED FØDSEL		DAG 28		DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
AFFJ	123	7,90	2,40	0,54	1,10	7,5	1,9	7,2	1,9
ØLA	134	8,13	2,22	0,45	1,02	7,2	1,9	7,1	1,9
KON	131	7,91	2,11	0,66	1,11	7,2	1,9	6,9	1,8
		NS		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

TABEL 3 HVALPETAB PR KULD FRA FØDSEL TIL DAG 42

HOLD	ANTAL KULD	HVALPETAB PR KULD	
		GENN	STD
AFFJ	123	0,76	1,91
ØLA	134	1,07	2,03
KON	131	1,04	1,56
		NS	

GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden var ikke forskellig mellem holdene (Tabel 4).

TABEL 4 HUNNERNES VÆGT OG VÆGT TAB Gennem dieperioden, GRAM

HOLD	ANTAL KULD	DAG 28		DAG 42		TAB DAG 28 TIL DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
AFFJ	123	1686	187	1500	210	187	106
ØLA	134	1737	195	1546	213	188	119
KON	131	1706	173	1522	184	183	104
		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Hvalpenes vægt var ikke signifikant forskellig mellem hold dag 28, men dag 42 var der forskel således, at hanhvalpene i ØLA holdet vejede mest, og der var en tendens til det samme for hunhvalpene (Tabel 5).

TABEL 5 HVALPENES VÆGTE DAG 28 OG DAG 42, GRAM

HOLD	ANTAL KULD	HANHVALPE DAG 28		HUNHVALPE DAG 28		HANHVALPE DAG 42		HUNHVALPE DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GEN	STD
AFFJ	123	192	34	175	31	346 b	81	313	67
ØLA	134	192	35	174	32	366 a	76	325	66
KON	131	188	37	175	33	349 b	84	316	73
		NS		NS		0,01		NS (0,09)	

GENN ER GENNEMSIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Dette ses af tilvæksten fra dag 28 til dag 42 (Tabel 6).

TABEL 6 HVALPENES TILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	ANTAL KULD	HANHVALPE		HUNHVALPE	
		GENN	STD	GENN	STD
AFFJ	123	153 b	64	136	54
ØLA	134	173 a	61	150	48
KON	131	161 b	63	141	53
		0,01		NS (0,07)	

GENN ER GENNEMSIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Den bedre tilvækst hos hvalpene i ØLA kan være forårsaget af en bedre mælkeydelse hos hunnerne samt en øget foderoptagelse hos hvalpene, hvilket baseres på, at foder indeholdende forsk fjerkræ formentlig vil have en god smag og konsistens.

Et forsøg gennemført i vinter og dieperioden viste faldende hvalpewægte med stigende iblanding af højtrykskogt fjerkræ (11-20-29-38%; Therkildsen & Clausen, 1994). Et andet tilsvarende forsøg (7,6 – 18 – 22,6 – 27,5 – 33,5 – 38,8% iblanding) viste reduceret hvalpewægt, men først ved over 30 % højtrykskogt fjerkræ (Clausen et al., 1994). Både KON og AFFJ med hhv. 6,6 og 16,5% af fordøjeligt protein fra affedt fjerkræ havde dårligere tilvækst end ØLA med 13,5% fordøjeligt protein fra forsk fjerkræ, eneste væsentlige forskel ud over fjerkræ produkterne var 10% mere fiskeafskær i KON frem for de øvrige hold. Ældre forsøg med fiskeafskær (0 – 25 og 44%) i stedet for industrifisk viste imidlertid de bedste hvalpewægte ved fiskeafskær (Clausen & Therkildsen, 1994). Det var dog

ved et noget højere proteinniveau, og kvaliteten af fiskeafskær kan variere meget. Hvorvidt fiskeafskær har haft betydning for resultaterne virker dog ikke sandsynligt, idet der også var en forholdsvis stor andel fiskeafskær i ØLA.

Proteinfordøjelighedskoefficienterne i de tre hold var 85,9 – 85,2 og 86,9% i hhv. KON, AFFJ og ØLA, hvilket er noget over anbefalingen på 83% for den pågældende periode (Team foder, 2017). Anbefalingerne til aminosyrer var ikke overholdt i AFFJ (cys, phe, tyr, ile og val) og ØLA (cys) (Teamfoder, 2017), men de var overholdt i KON. KON og AFFJ havde samme hvalpetilvækst, så underindhold af nogle af aminosyrerne vurderes ikke være det væsentligste for resultaterne.

Procent døde hunner i perioden fra fødsel til dag 42 var 2,3 – 1,8 og 1,8 i hold AFFJ, ØLA og KON. Der var ikke forskel i hvor mange kuld / hunner der blev behandlet med antibiotika gennem perioden, men der var flere kuld i

AFFJ og KON holdet frem for ØLA holdet, der havde brug for ekstra hjælp i form af kaninvandflasker (Tabel 7).

TABEL 7 FREKVENSEN AF HUNNER / KULD DER BLEV BEHANDLET MED ANTIBIOTIKA GENNEM DIEPERIODEN OG FREKVENSEN AF KULD DER FIK SAT KANIN VANDFLASKER OP

HOLD	VAND- FLASKER	TOTAL BEHANDLEDE
AFFJ	12,2 b	4,1
ØLA	2,2 a	6,7
KON	7,6 b	3,1
	0,01	NS

NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BØGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Konklusion

Tildeling af fersk fjerkræ biprodukt (20%) resulterede i signifikant højere tilvækst hos hanhvalpe og tendens til højere tilvækst hos hunhvalpe fra dag 28 til dag 42 i forhold til tildeling af højtrykskogt affedt fjerkræ (20%) eller øget fiskeafskær kombineret med højtrykskogt affedt fjerkræ (8%).

Referencer

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T. N. & Therkildsen, N., 1994. Forsøg med begrænset anvendelse af fiskeaffald i vinter / dieperioden. Faglig Årsberetning 1993/1994 [2. udg.] 62-66 [45-48], Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed A/S, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., Therkildsen, N. & Svendsen, A., 1994. Dieperioden 1994: Forsøg med store mængder fjerkræaffald i minkfoder. Faglig Årsberetning 1993/1994 [2. udg.] 54-61 [39-44], Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed A/S, Holstebro, Danmark.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, September 15 – 18. Scientifur, 28, 3, 79 - 86.

SAS Institute Inc., 1996. SAS © System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp

Team foder, 2017: Anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2018. Intern Rapport, København Fur Forskning 2017

Therkildsen N. & Clausen, T.N., 1994. Afprøvning af fjerkræaffald (Danpo, Løgstør) til mink i perioden februar-juni 1993. Faglig Årsberetning 1993/1994 [2. udg.] 49-53 [35-38], Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed A/S, Holstebro, Danmark. ✕

EFFEKT AF TILDELING AF ENERGIRIGE ØRREDPILLER SOM SUPPLEMENT TIL STANDARD DIEPERIODEFODER TIL MINK HUNNER I DIEGIVNINGSPERIODEN

Af Tove N. Clausen, Kevin Byskov & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at se, hvorvidt et supplement med ørredpiller med højt kalorieindhold til et standard diefoder tildelt hunnerne i dieperioden, kan øge hunnernes mælkeproduktion og dermed hvalpenes vækst. I forsøget indgik to hold a 130 brune hunner med kuld født i perioden 27. april til 2. maj. Begge hold (KON og PIL) blev opstaldet i standard minkbure. Alle hunner var fodret med fodercentralfoder indtil 20. april og fik dernæst et standard dieperiodefoder indtil hvalpene var 6 uger. I burene hos forsøgsholdet (PIL) blev der opsat skåle (4. maske for oven i højre side). I disse skåle blev der fra fødsel og indtil hvalpene var 6 uger tildelt høj energiholdige ørredpiller som supplement til KON foderet.

Tildeling af ørredpiller, som supplement til mink hunnerne i dieperioden, resulterede i højere hanhvalpevægte dag 28, samt færre hvalpe der havde brug for supplerende vandflaske i dieperioden. Forsøget bør gentages med hunner, der er tilvænnet pillefoder før fødsel.

Clausen, T.N., Byskov, K & Larsen, P.F., 2019. Effekt af tildeling af energirige ørredpiller som supplement til standard dieperiodefoder til hunner i diegivningsperioden. Faglig Årsberetning 2018, 60-63. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: kropsvægt, kuldstørrelse, hvalpe overlevelse, tørfoder, dieperioden.

Abstract

The purpose of the experiment was to see whether trout pellets with high energy content given as a supplement to traditional lactation feed during the nursing period can increase the females milk production and thereby the growth of the kits. The experiment comprised two groups of 130 brown female mink with litters born in the period

April 27th to May 2th. Both groups (KON and PIL) were housed in standard mink cages. All females were fed with feed from the local feed kitchen until April 20th and thereafter a standard lactation feed until the kits were 6 weeks of age. In the cages of the trial group (PIL), bowls were placed in the 4th mask from the top, right side of cage. In these bowls, high energy trout pellets were given as a supplement to the lactation feed from the day of birth until the kits were 6 weeks of age.

Feeding of trout pellets as a supplement to the mink females during the lactation period resulted in higher weight of male kit day 28, as well as fewer kits who needed additional water. The experiment needs to be repeated with females accustomed to pellets before birth.

Clausen, T.N., Byskov, K & Larsen, P.F., 2019. The effect of feeding high energy trout pellets as a supplement to standard lactation feed to mink females in the nursing period. Annual Report 2018, 60-63. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: body weight, litter size, kit survival, dry feed, lactation period

Indledning

Fodring af hunnerne i dieperioden i maj er væsentlig for hvordan hvalpene senere klarer sig. Generelt kan man sige, at jo flere kalorier hunnen æder, jo mere mælk producerer hun, og jo større bliver hvalpene (Clausen & Larsen, 2015a; Clausen & Hejlesen, 2001, 2002; Clausen, 2011). Der er dog en fysisk grænse for, hvor meget hunnen kan æde (Clausen & Larsen, 2012), og det er derfor utroligt væsentligt, at foderet er kalorierigt, velsmagende og højt fordøjeligt. En reduktion i kalorieoptagelsen hos hunnerne på grund af højt indhold af fibre og vand, gav mindre hvalpe og flere hunner, der blev for tynde ved fra-

vænning (Clausen et al., 2015). Fra dag 28 når hvalpene begynder at æde tilsættes ekstra vand til foderet for at forbedre hvalpenes vandoptagelse. Fodring af hunner på buret hele dieperioden uden ekstra vand iblanding, viste en bedre vægt af hunnerne dag 42 og 49 (Clausen & Larsen, 2016, 2017), end hvis hunnerne var fodret på redekassen sammen med hvalpene fra dag 28 og frem. Et øget kalorieindhold i hunnernes foder i forhold til hvalpenes gav ud over større vægt af hunnerne også bedre vægt af hvalpene dag 28 (Clausen & Larsen, 2016).

Det er således utroligt væsentligt, at foderet er kalori-erigt til hunnen (Clausen, et al., 2004, 2005; Fink & Tauson, 2000, 2002; Fink et al., 2001), og samtidig har et højt protein- og vandindhold til hvalpene (Clausen, et al., 2004, 2005; Clausen og Larsen, 2014; Risager et al., 1992; Clausen, 1993). Formålet med forsøget var derfor at anvende ørredtørfoderpiller med højt kalorieindhold til hunnerne, som et supplement til foder med højere proteinindhold der mere tilgodeser hvalpenes behov. Dette blev afprøvet i dieperioden 2018.

Materiale og metoder

I forsøget indgik to hold a 130 brune hunner med kuld født i perioden 27. april til 2. maj. Begge hold (KON og PIL) blev opstaldet i standard minkbure. Alle hunner var fodret med fodercentralfoder indtil 20. april og fik dernæst et standard dieperiodefoder indtil hvalpene var 6 uger. I burene hos forsøgsholdet (PIL) blev der opsat skåle (4. maske for oven i højre side). I disse skåle blev der fra fødsel og indtil hvalpene var 6 uger tildelt høj energiholdige ørredpiller efter ædelyst som supplement til KON foderet. For at reducere spildet blev skålen placeret ikke ret langt under overtråden, det gjorde det besværligt at skrabes pillerne ud. Ved pilot studier er det observeret, at det tager 7 – 10 dage for hunnerne at vænne sig til skålen og til at æde af ørredpillerne. Pillerne der blev anvendt var ørredfoder "EFICO E 920 Advance 3mm - voksefoder". Fordøjelighedsforsøg (Byskov, 2018) med pillerne til mink viste en FKp på 80,7%, FKf på 97,2% og FKK på 47,8%, mens energifordelingen (protein:fedt:kulhydrat) var 35,4 : 57,9 : 6,7 og energiindholdet var 457 kcal/100 g. Hvalpene blev fodret på redekassen fra dag 28 med standard dieperiodefoder tilsat så meget vand som muligt. Dette foder havde hunnerne også adgang til. Der blev startet op med 30 g piller til hunnerne den dag de fødte. Dagligt blev hår og smuds fjernet fra skålene og d. 4. juni blev skålene tømt og rengjort. Den dagligt udfodrede pille mængde blev registreret, men der blev ikke registreret spild (fig 1).



FIGUR 1 SKÅLENS PLACERING I BURET

Anden års hunner blev vejet 1. nov., ung hunner blev vejet ved sortering 6. nov., alle hunner blev dernæst vejet 19. dec., 29. jan., 20. feb., samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, samt talt og vejet dag 28 og dag 42. Døde dyr blev indsamlet og obduceret. Sygdomme, flyttede hvalpe, bid samt anvendelse af kaninvandflasker blev noteret. Dag 42 blev foretaget individuel fravænning af store kuld (Clausen & Larsen, 2015b).

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med proceduren Probit.

Resultater og diskussion

Det var ikke muligt at bestemme det daglige pilleforbrug til den enkelte hun. Hygiejnen i pilleskålen var god og pillerne holdt sig friske flere dage. Hunnerne skulle vænne sig til at æde pillerne, så i begyndelsen blev der ikke brugt meget pillefoder. Pilleforbruget steg gennem perioden, og i de sidste 10 dage af forsøget blev der i gennemsnit udfodret 57 kcal pr hun. Der er dog ikke taget højde for spild. Forbruget af vådfoder blev ikke registreret. Hunnerne blev fodret med fodercentralfoder indtil 20. april og vægtudvikling gennem vinterperioden var ens. Gennemsnitlig vægt for KON og PIL var hhv. 2026 og 2007 gram ved sortering først i november og hhv. 1253 og 1235 gram d. 20. feb.. Dagen efter fødsel blev huldet vurderet til 3,0 i begge hold.

Hvalpeantallet pr kuld gennem dieperioden var ens (Tabel 1), og der var ikke forskel på, hvor mange hvalpe der døde gennem dieperioden (Tabel 2).

TABEL 1 ANTAL LEVENDE OG DØDE HVALPE PR KULD VED FØDSEL SAMT ANTAL LEVENDE HVALPE DAG 28 OG 42

HOLD	ANTAL KULD	LEVENDE		DØDE		DAG 28		DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	7,9	2,1	0,66	1,11	7,2	1,9	6,9	1,8
PIL	132	7,7	2,3	0,52	0,98	7,0	1,9	6,6	2,1
		NS		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSIT, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

TABEL 2 DØDE HVALPE PR KULD Gennem dieperioden

HOLD	ANTAL KULD	FRA FØDSEL TIL DAG 28		FRA DAG 28 TIL DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD
KON	131	0,73	1,36	0,31	0,75
PIL	132	0,69	1,44	0,33	1,04
		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNIT, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE.

Hunnernes vægt udvikling gennem dieperioden var ikke forskellig mellem holdene (Tabel 3). I en undersøgelse med højt kalorieindhold i foderet (tilsætning af ekstra soyaolie) til hunnerne i dieperioden blev set højere hunvægte (Clausen & Larsen, 2016) som følge af et højere indtag af kalorier. I dette forsøg var det ikke muligt at registrere hunnernes totale kalorieoptagelse i de to hold, og det vides derfor ikke, om der var forskel. Det ville formodentlig have været en fordel for hunnernes totale kalorieoptagelse, hvis de havde været tilvænnet pillerne før dieperiodens start.

Hvalpevægtene var numerisk størst i PIL holdet (Tabel 4) og dag 28 var forskellen signifikant for hanhvalpenes vedkommende (Tabel 4). I forsøget med øget kalorieindhold i hunnernes foder i forhold til hvalpenes (Clausen & Larsen, 2016) blev ligeledes set højere vægt af hvalpene dag 28.

TABEL 3 HUNNERNES VÆGTUDVIKLING I GRAM Gennem dieperioden

HOLD	FRA FØDSEL TIL DAG 28		FRA DAG 28 TIL DAG 42	
	GENN	STD	GENN	STD
KON	1706	173	1522	184
PIL	1703	157	1505	182
	NS		NS	

GENN ER GENNEMSNIT, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE.

TABEL 4 HVALPENES VÆGT DAG 28 OG DAG 42, GRAM

HOLD	HANHVALPE DAG 28		HUNHVALPE DAG 28		HANHVALPE DAG 42		HUNHVALPE DAG 42	
	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	316	73
KON	188 b	37	175	33	349	84	328	66
PIL	199 a	40	179	32	365	83	NS	2,1
	0,04		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNIT, STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I KOLONNEN ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Der var flere kuld, der fik kaninflasker sat op i KON frem for i PIL (Tabel 5), som tegn på at hvalpene var lidt utrivelige. Var der ikke udøvet lidt mere hjælp til hvalpene i KON holdet, ville der formodentlig have været større forskel mellem vægtene dag 42. I begge hold døde der 3 hunner i

TABEL 5 PROCENT KULD DER FIK KANINFLASKER SAT OP, KULD HVORFRA DER BLEV SAT HVALPE I HVALPEKASSE OG PCT BEHANDLEDE KULD

HOLD	VAND-FLASKER	HVALPE KASSE	TOTAL BEHANDLEDE
KON	7,6 a	2,3	3,1
PIL	2,3 b	0	4,6
	0,05	NS	NS

NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I KOLONNEN ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

perioden fra fødsel til dag 42.

Konklusion

Tildeling af højt energiholdige ørredpillere som supplement til hunnerne i dieperioden gav højere hanhvalpewægte dag 28 samt færre hvalpe, der havde brug for supplerende vandflaske i dieperioden. Forsøget bør gentages med hunner, der er tilvænnet pillefoder før fødsel.

References

Byskov, K., 2018. Rapport for fordøjelighedsforsøg med mink (Neovison vison) Ørredfoder (1827F). Intern meddelelse.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2017. Fodring i diegivningsperioden hos brune mink. Faglig Årsberetning 2016, 89 - 92. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016. Fodring i diegivningsperioden hos brune mink. Faglig Årsberetning 2015, 33 - 40. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015a. Reduceret fodertildeling i april og første halvdel af maj Faglig Årsberetning 2014, 75-87. København Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015b. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T.N., Hvam, K., Tinggård, L. & Larsen, P.F., 2015. Vandbalance efter LactiGel fibertilsætning til foderet. Faglig Årsberetning 2014, 43 - 50. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2014. Effekt af ekstra vand i dieperioden. Faglig Årsberetning 2013, 97 - 100. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2012. Undersøgelse af hvor stor en procentdel fibre i foderet mink vil acceptere, før de nedsætter deres energioptag. Faglig Årsberetning 2011, 84-93. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N., 2011. Kraftig fodring af hvalpe i juni - juli. Faglig Årsberetning 2010, 55 - 58, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., Hejlesen, C. & Sandbøl, P., 2005. Protein til mink i dieperioden og i den tidlige vækstfase Faglig Årsberetning 2004, 77 - 81. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., Hejlesen, C. & Sandbøl, P., 2004. Proteinforsyning til minktæver og hvalpe i første halvår. Faglig Årsberetning 2003 for Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, 75 - 79.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2002. Ad libitum eller restriktiv fodring af tæver i maj, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2001, 77-80.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2001. Kraftig eller svag fodring af standard tæver i drægtighedsperioden 2000. Faglig årsberetning for pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2000, 51-54.

Clausen, T.N., 1993. Undersøgelse over sammenhængen mellem foderets tørstofprocent og dieperiodens forløb. Faglig Årsberetning 1992, 118 - 123, Dansk Pelsdyravlerforening.

Fink, R. and Tauson, A.-H. 2002. Milk production in mink (Mustela vison) - Effect of protein supply. NJF-seminar no 347. Vuokatti, Finland. Poster.

Fink, R. og Tauson, A.-H. 2000. Mælkeproduktion - effekt af energifordeling mellem protein, fedt og kulhydrat. In: Bilag til temadag: En god start i livet for minkhvalpen (Ed. B.M. Damgaard). Danmarks JordbrugsForskning, Intern Rapport 135, p. 39-44.

Fink, R., Tauson, A.-H. & Børsting, C.F. 2001. Dietary protein, fat and carbohydrate supply to lactating mink (Mustela vison) - Effect on glucose homeostasis, energy metabolism and milk production. NJF-seminar, Helsingør, October 2001, p. 41-50.

Risager, H.J., Clausen, T.N. & Olesen, C.R., 1992, Variationer i foderets tørstofprocent og dets betydning for fremkomsten af diegivningssyge hos minktæver. Faglig Årsberetning 1991, 190-197. Dansk Pelsdyravlerforening.

SAS Institute Inc., 1996. SAS ® System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp ✕

FODRING AF HUNNER OG HVALPE I DIEPERIODEN MED STARTEX 100 – EN KULHYDRATKILDE MED HØJ FORDØJELIGHED OG VANDBINDINGSEVNE

Af Tove N. Clausen, Kevin Byskov & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge, om det har betydning for hvalpenes tilvækst i dieperioden, om de får en højere fordøjelig kulhydratkilde med øget vandbindingssevne. I forsøget indgik to hold á 130 brune hunner med hvalpe i perioden fra fødsel til dag 42. Kontrolholdet fik en byg-hvede blanding (1:1) som kulhydratkilde og forsøgs-holdet fik et højt fordøjeligt ærttestivelses produkt med høj vandbindingssevne (Startex 100).

Anvendelse af Startex 100 havde negativ effekt på hvalpenes tilvækst fra dag 28 til dag 42, sandsynligvis på grund af mindre vandiblanding og dermed højere fodertørstof end planlagt. Det bevirkede, at hvalpene i STAR holdet ved samme kalorieoptagelse skulle drikke mere vand ud over den del der kom fra foderet, i forhold til KON holdets hvalpe. Desuden var der flere hunner, der blev behandlet i dieperioden i STAR frem for KON holdet.

Clausen, T.N., Byskov, K. & Larsen, P.F., 2019. Fodring af hunner og hvalpe i dieperioden med Startex 100 – en kulhydratkilde med høj fordøjelighed og vandbindingssevne. Faglig Årsberetning 2018, 64-69. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: kropsvægt, kuld størrelse, hvalpeoverlevelse, vandbinding, kulhyd

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate whether it is important for the growth of the kits in the lactation period to be fed a highly digestible carbohydrate source with increased water binding capacity. The experiment comprised two groups of 130 brown females with kits in the period from birth to day 42. The control group received a barley-wheat mixture (1:1) as a carbohydrate source and the test group received a highly digestible pea starch

product with a high-water binding capacity (Startex 100).

Use of Startex 100 had a negative effect on the growth of the kits from day 28 to day 42, most likely due to less water added to the feed and thereby a higher dry matter content of the feed than planned. Consequently, at the same calorie intake STAR kits needed to drink more water in addition to the amount of water that came from the feed in order to obtain the same total water intake as the KON kits. In addition, there were more females that had to be treated during the nursing period in the STAR group than in the KON group.

Clausen, T.N., Byskov, K. & Larsen, P.F., 2019. Feeding mink females and kits in the lactation period with Startex 100 – a carbohydrate source with high digestibility and water binding capacity. Annual Report 2018, 64-69. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: body weight, litter size, kit survival, water binding, carbohydrate

Indledning

Hvalpe har brug for letfordøjeligt foder og meget vand, når de begynder at æde. En måde at forbedre hvalpenes vandforsyning er ved at øge vandindholdet i foderet. En nedsættelse af foderets tørstofindhold fra 37 til 25% ved at tildele tyndt foder i kaninskåle, var positivt for hvalpenes fravænningsvægte (Risager et al., 1992; Clausen, 1993). Når hvalpene begynder at æde tilsættes således så meget vand til foderet, som det kan bære. En måde at få foderet til at bære mere vand, er ved at tilsætte fiber, der binder ekstra vand. For nogle af de undersøgte fiberstoffer gav et øget vandindhold i foderet en reduceret drikkevandsoptagelse ved de anvendte iblandingsprocenter. For andre fiberstoffer var dette ikke tilfældet, derimod var der meget vand med ud i gødningen (Larsen & Clau-

sen, 2013; Clausen et al., 2013; Clausen, 2010; Clausen et al., 2015). Dette må betegnes som u hensigtsmæssigt, idet dyrene stadig skal drikke så meget som før, og en øget gødningsmængde tager salte med ud af kroppen. Desuden har hunnerne behov for meget energi i foderet, en tilsætning af ufordøjelige fibre og meget vand vil bevirke, at hun skal æde en større fodermængde. Ædetidsregistreringer på gølge mink hunner har vist at fibre op til 5% ikke havde nogen negativ betydning, men ved mere end 5% blev ædetiden øget og ved over 10% var kalorieoptagelsen reduceret (Clausen, & Larsen, 2012). Tilsvarende er set ved forsøg med lakterende rotter, hvor en fortynding af foderet med 10% ufordøjeligt materiale medførte et signifikant fald i energi optagelsen (Peterson and Baumgardt, 1971). Det vil således være optimalt for både hunner og hvalpe med produkter der binder vand i foderet, men samtidig er et næringsstof som fordøjes, således at det ikke tager vand med ud i gødningen og samtidig bidrager med næringsstoffer og energi til dyrene. Der er en lav fordøjelighed af de sædvanlige kulhydratkilder til minkfoder, hhv. poppet formale byg (FKk 70,3%) og hvede (FKk 76,3%) (Kopenhagen Fur, 2018). En undersøgelse af forskellige kulhydratkilder i perioden 22. feb. til fravænning (Clausen et al., 2003) viste de numerisk bedste hvalpevægte ved majsstivelse (FKk 93%) frem for byg og hvede. Anvendelse af Maltodextrin (krystalagtigt smagløst pulver bestående af glukoseenheder, FKk 96%) gav imidlertid ikke bedre hvalpetilvækst i perioden dag 28 til dag 56 (Clausen & Larsen, 2019). Der udvikles til sta-

dighed nye kulhydratkilder, en af dem er ekstruderet ærtestivelse (Startex). Startex har både høj kulhydratfordøjelighed (FKk 96%) og en god vandbindingsevne således, at der kan blandes meget vand i foderet til hvalpene uden at sænke foderets fordøjelighed. Indholdet af ufordøjelige fibre er meget lavt, og et testfoder med 7% Startex havde betydelige bedre vandbindingsevnen (25% ekstra vand) end et kontrolhold med 9,6% byg-hvede (5% ekstra vand) (Byskov, 2017). Startex foderet havde en mere gele/elastisk konsistens end kontrolfoderet og kunne dermed hænge på tråden, på trods af, at tørstof i Startex foderet kun var 28,6% mod 31,4% i kontrolholdet (Byskov, 2017). Afprøvning af vandbalancen på dette foder hos 42 – 44 dage gamle hvalpe viste, at hvalpe der fik 7% Startex fik 14,1% af deres vand fra drikkevand, hvorimod kontrolholdet med byg/hvede fik 29,8% af deres vand fra drikkevand.

Formålet med forsøget var at afprøve Startex 100 som kulhydratkilde i foder til hvalpe i dieperioden for at afklare, om hvalpene har gavn af en højt fordøjelig kulhydratkilde med øget vandbindingsevne.

Materiale og metoder

I forsøget indgik to hold á 130 brune hunner med kuld født i perioden 27. april til 2. maj. Kontrolholdet (KON) blev fra 20. april til dag 42 fodret med en byg/hvede blanding (1:1) som kulhydratkilde, mens forsøgsholdet (STAR) blev tildelt et foder, hvor den tilsvarende fordøjelige kulhydratdel var udskiftet med Startex 100 (Tabel 1).

TABE 1 KEMISK SAMMENSÆTNING OG FORDØJELIGHED AF EN BYG/HVEDE BLANDING (1:1) OG AF STARTEX 100

	POPPET BYG/HVEDE *	STARTEX 100
Tørstof, %	91,8	92,9 #
Råprot, %	10,4	13,5 #
Råfedt, %	2,5	0,8 #
Aske, %	1,8	2,1 #
Råkulhydrat beregnet, %	77,1	76,6 #
FK protein, %	76,8	88,8 □
FK fedt, %	76,2	96 §
FK kulhydrat, %	73,3	96,4 □

* VÆRDIER FRA AGROSOFT; # BYSKOV (2017); □ FRA AM NUTRITION, 2018; § BASERET PÅ ANDRE STIVELSE OG ÆRTE PRODUKTER

Foderet blev jævnligt kontrolleret ved analyse af kemiske og bakteriologiske kvalitetsparametre. Foderplanen ses af Tabel 2.

Hunnerne blev fodret på buret hele perioden, hvalpene

TAB 2 FODERPLANER FOR KON OG STAR DIEPERIODEN 2018, RÅVARER I % AF FODERET.
FRA STARTEN AF MAJ BLEV DER TILSAT SALT OP TIL 0,42 G / 100 Kcal

	KON	STAR
Fiskeafskær	30	30
Industrifisk	39,0	39,1
Fiskeensilage	3	3
Affedt fjerkræ	8	8
Startex		4,68
Byg / hvede	6,14	
Fiskemel	3	3
Hæmoglobinmel	3	2,87
Kartoffelprotein	2	2
Majsgluten	1,81	3
Soyaolie	2,59	2,8
Svinefedt	1,3	1,4
Vit.-bl. α	0,2	0,2
Vand		
Plantal		
Tørstof %	36	36
Energiindhold g/100 kcal	166	172
Energifordeling P: F: K	45:45,2:9,8	45:45,2:9,8
Analysetal udfodret på buret		
Tørstof %	34,1	35,7
Energiindhold g/100 kcal	153	166
Energifordeling P: F: K	44,5:45,5:10	44:46:10

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMENSÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2018 (TEAMFODER, 2017); α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 12.500 MG B1-VITAMIN; 4.000 MG B2-VITAMIN; 4.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 8.000 MG NIACIN; 60.000 MG COLINEXTRA; 500 MG FOLINSYRE; 100 MG BIOTIN; 25 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU.

blev fra dag 28 fodret på redekassen med så meget vand i foderet som muligt. Anden års hunner blev vejlet 1. nov., ung hunner blev vejlet ved sortering 6. nov., alle hunner blev dernæst vejlet 19. dec., 29. jan., 20. feb., samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, samt talt og vejlet dag 28 og dag 42. Døde dyr blev indsamlet og obduceret. Sygdomme, flyttede hvalpe, bid samt anvendelse af kaninvandflasker blev noteret. Dag 42 blev foretaget individuel fravænnning af store kuld (Clausen & Larsen, 2015).

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante

kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med proceduren Probit.

Resultater og diskussion

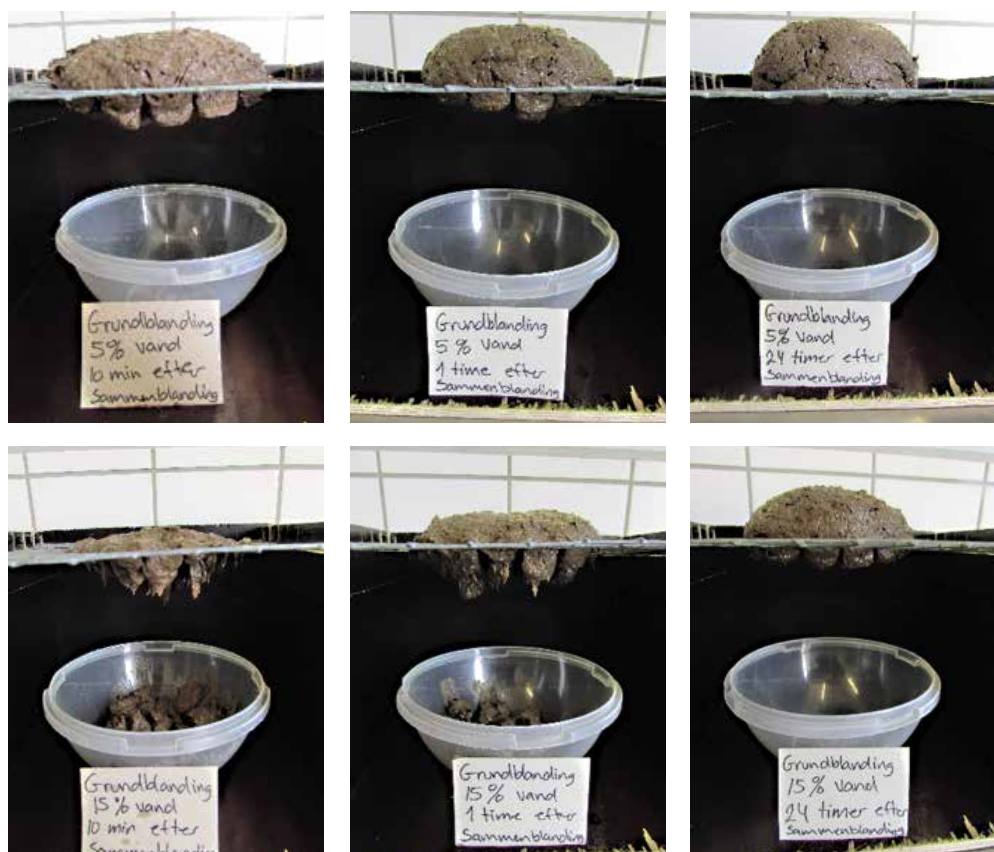
Analysen af foderet viste pæn overensstemmelse mellem de analyserede og de planlagte værdier (Tabel 2). Anbefalinger til aminosyreindhold (Teamfoder, 2017) var overholdt i begge hold.

Behov for vand til hvalpe er 2,7 til 3,1 gram vand pr gram fodertørstof eller 62 til 70 gram vand pr 100 kcal (Clausen, 2010). Energiindholdet pr 100 gram tørstof i STAR var højere end i KON på grund af højere kulhydratfordøjelighed. Desuden var tørstofprocenten, målt i det foder, der var fod-

ret ud på tråden, mod forventning højere i STAR end i KON (Tabel 2). Det bevirkede, at hvalpene i STAR holdet ved samme kalorieoptagelse skulle drikke mere vand ud over den del der kom fra foderet, i forhold til KON holdets hvalpe. Det var ikke hensigten med undersøgelsen, og svarer ikke til resultaterne fra Byskov (2017), hvor hvalpene i et vandbalanceforsøg skulle drikke mindre, når der var Startex i foderet. En mulig forklaring kan være, at det har væ-

ret svært at vurdere, hvor meget vand foderet kunne bære, da det blev udfodret på tråden med fodermaskine, og der derfor ikke er tilsat så meget vand som ønsket. Henstand af foder med Startex viser, at det eftersuger vand over tid og efter en periode virker som en fast masse, der kan være svær for dyrene at få fat på (Figur 1).

Hunnerne blev fodret med fodercentralfoder indtil 20. april, og der var ikke signifikant forskel i vinterperiodens



FIGUR 1 EFTERSUGNING AF VAND I FODER MED STARTEX

vægte. Hunnernes huld ved fødsel var 3 (huld vurderet ud fra metode udviklet af Hynes et al. (2004)). Antal hvalpe ved fødsel, dag 28 og dag 42 samt hvalpetabet gennem dieperioden (Tabel 3), var ikke signifikant forskellig. Der var

signifikant flere døde hvalpe ved fødsel i KON frem for i STAR, men da hunnerne har været fodret ens gennem vinterperioden, må det være tilfældigheder, der er årsagen. Hvalpene vejede ikke signifikant forskelligt dag 28, men

TABEL 3 ANTAL HVALPE PR KULD VED FØDSEL, DAG 28 OG DAG 42 SAMT ANTAL DØDE HVALPE PR KULD VED FØDSEL

HOLD	N	LEVENDE		DØDE		DAG 28		DAG 42		HVALPETAB FØDSEL - DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	7,91	2,11	0,66 a	1,11	7,2	1,9	6,9	1,8	1,04	1,56
STAR	136	7,90	2,34	0,34 b	0,79	7,4	1,8	6,9	2,1	1,04	2,14
		NS		0,007		NS		NS		NS	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

dag 42 var der tendens til en forskel hos hanhvalpene (Tabel 4), således at hvalpene i STAR holdet havde lidt lavere vægt end KON holdets hanhvalpe. Tilvæksten var signifikant forskellig både for han og hun hvalpe, idet STAR holdets hvalpe havde den laveste tilvækst fra dag 28 til dag 42 (Tabel 5).

Den reducerede tilvækst hos disse hvalpe kan være forårsaget af en reduceret foderoptagelse som følge af fode-

rets smag eller konsistens, eller at hvalpene har haft lidt flere problemer med at drikke nok grundet større behov for drikkevand. Dertil kommer den meget tørre sommer, der må have påvirket behovet for drikkevand til hvalpene i begge hold. Tidligere forsøg med majsstivelse, der ligeledes er en meget let fordøjelig kulhydratkilde (FKk 93%), viste en positiv effekt på hvalpewægtene dag 42 (Clausen et al., 2003). Derimod havde Maltodextrin ingen effekt på tilvæksten fra dag 28 til dag 56 (Clausen & Larsen, 2019).

TABEL 4 HVALPENES VÆGTE DAG 28 OG DAG 42, GRAM

HOLD	N	HANHVALPE DAG 28		HUNHVALPE DAG 28		HANHVALPE DAG 42		HUNHVALPE DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	188	37	175	33	349	84	316	73
STAR	136	189	36	175	30	329	78	301	66
		NS		NS		NS (0,09)		NS	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE;

TABE 5 HVALPE TILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	N	HANHVALPE		HUNHVALPE	
		GENN	STD	GENN	STD
KON	131	161 a	63	141 a	53
STAR	136	139 b	59	126 b	52
		0,01		0,05	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSIT OG STD ER SPREDNINGEN;
NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE;
FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL.

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden var ikke forskellig mellem holdene (Tabel 6).

TABE 6 HUNNERNES VÆGT DAG 28, DAG 42 SAMT VÆGT TAB FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	N	DAG 28		DAG 42		VÆGT TAB	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	1706	173	1522	184	183	104
STAR	136	1711	168	1507	193	203	101
		NS		NS		NS	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.

Der døde 1,8 og 4,5 % af hunnerne i perioden fødsel til dag 42 i hold KON og STAR, og der var signifikant flere hunner ($p = 0,03$) der fik behandling i STAR (8,8 %) frem for i KON (3,1 %), overvejende som følge af yverbetændelse og tynde hunner på trods af, at der ikke var signifikant forskel i hunnernes vægttab i dieperioden. Der var ikke forskel på hvor mange kuld, der fik kaninvandflasker sat op.

Konklusion

Anvendelse af et højt fordøjeligt ærtestivelsesprodukt med god vandbinding (Startex 100) havde negativ effekt på hvalpenes tilvækst fra dag 28 til dag 42, sandsynligvis på grund af mindre vandiblanding og dermed højere fordertørstof end planlagt. Det bevirkede, at hvalpene i STAR holdet ved samme kalorieoptagelse skulle drikke mere vand ud over den del der kom fra foderet, i forhold til KON holdets hvalpe. Desuden var der flere hunner, der skulle behandles i dieperioden i STAR frem for KON holdet.

Referencer

AM Nutrition, 2018. Personal communication

Byskov K., 2017. Water balance trials with mink (Neovision), Pea starch product – Startex 100 (1739B). Forsøgsrapport fra vandbalance forsøg. Intern meddelelse.

Clausen, T.N., 2010. Water balance in 8 week old mink kits. NJF Seminar no. 440, September 29 – October 1, 2010, Oslo, Norway, Poster presentation

Clausen, T.N., 1993. Undersøgelse over sammenhængen mellem foderets tørstofprocent og dieperiodens forløb. Faglig Årsberetning 1992, 118 - 123, Dansk Pelsdyravlerforening.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. AlphaSoy Premium og Maltodextrin til 4 til 8 uger gamle minkhvalpe. Faglig Årsberetning 2018, 51-54. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovision). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2012. Undersøgelse af hvor stor en procentdel fibre i foderet mink vil acceptere, før de nedsætter deres energioptag. Faglig Årsberetning 2011, 84-93. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N., Hejlesen, C., Sørensen, H., Bjerregaard, C., Mortensen, K. & Christiansen, C., 2003. Kulhydratkilder til mink i dieperioden. Faglig Årsberetning 2002, 27-31. Pelsdyrervhervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., Hvam, K., Tinggård, L. & Larsen, P.F., 2015. Vandbalance efter LactiGel fibertilsætning til foderet. Faglig Årsberetning 2014, 43 - 50. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N., Tinggaard, L., Hvam, K. & Larsen, P. F., 2013. Betydningen af fibre i foderet for hvalpenes optagelse af drikkevand. Faglig Årsberetning 2012, 55-62. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, September 15 – 18. Scientifur, 28, 3, 79 - 86.

Kopenhagen Fur (2018): Råvaretabellen, Internt dokument. Opdateret oktober 2018

Larsen, P.F. & Clausen, T.N., 2013. Effect of different fibres on mink kit water balance in the late lactation period. Poster presentation NJF Seminar 464, 28-30 August 2013, Iceland

Peterson AD, Baumgardt BR. Influence of level of energy demand on the ability of rats to compensate for diet dilution. J Nutr. 1971 Aug;101(8):1069-74.

Risager, H.J., Clausen, T.N. & Olesen, C.R., 1992, Variationer i foderets tørstofprocent og dets betydning for fremkomsten af diegivningssyge hos minktæver. Faglig Årsberetning 1991, 190-197. Dansk Pelsdyravlerforening.

SAS Institute Inc., 1996. SAS © System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp

Team foder, 2017: Anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2018. Intern Rapport, København Fur Forskning 2017 ✕

EFFEKT AF FODRING MED FJERKRÆBIPRODUKTER TIL MINKHVALPE I VÆKST- OG PELSSÆTNINGSPERIODEN

Af Tove N. Clausen, Karoline Blaabjerg & Peter Foged Larsen
Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge effekten af at fodre minkhvalpe i vækst- og pelssætningsperioden med forskellige fjerkræbiprodukter. I forsøget indgik 5 hold á 138 brune hanmink hvalpe. Til to hold blev anvendt et ferskt fjerkræbiprodukt (Øland) i niveauerne 40% (Ø40) eller 60% (Ø60). Til to hold blev tilsvarende anvendt et lav temperatur behandlet fjerkræbiprodukt (Løgstør) i niveauerne 40% (Ltemp40) eller 60% (Ltemp60) og til et hold blev anvendt fjerkræmel (Sarval) i en iblanding på 5% (Fjmel5) kombineret med industrifisk.

Forsøget viste, at tildeling af det ferske fjerkræbiprodukt resulterede i den højeste tilvækst, overlevelse og foderudnyttelse, på trods af at flere af aminosyrerne lå under de nuværende anbefalinger i perioden.

Clausen, T.N., Blaabjerg, K & Larsen, P.F., 2019. Effekt af fodring med fjerkræbiprodukter til mink hvalpe i vækst- og pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2018, 70-79. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: tilvækst, skindkvalitet, skindlængde, fjerkræbiprodukter

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate the effect of feeding mink kits with different poultry by-products during the growing and furring period. The experiment comprised 5 groups of 138 brown male kits. Two groups were fed a raw poultry by-product (Øland) either 40% (Ø40) or 60% (Ø60). Two groups were fed a low temperature processed poultry by-product (Løgstør) either 40% (Ltemp40) or 60% (Ltemp60) % and one group were fed 5% of a poultry meal product (Sarval) (Fjmel5) in combination with industrial fish.

The experiment showed that feeding with the raw poultry by-product resulted in the highest growth, survival and feed efficiency, despite that some of the amino acids were below the current recommendations in the period.

Clausen, T.N., Blaabjerg, K & Larsen, P.F., 2019. Effect of feeding poultry by-products to mink kits during the growing and furring period. Annual Report 2018, 70-79. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: growth, fur quality, skin length, poultry by-product

Indledning

Produktionen af fjerkræ er stigende i EU, og der er store mængder fjerkræbiprodukter til rådighed. I dansk minkfoder anvendes en lille del ferskt, en lille del syrnnet, men den største del varmebehandles ved høje temperaturer. Forsøg gennemført i 1994, med op til 60% fjerkræbiprodukt (Løgstør - højtryksskogt) i foderet, viste ikke signifikante forskelle på tilvækst, skindlængde, -farve eller -renhed (Clausen og Therkildsen, 1996). Ved 60 % iblanding var der dog signifikant færre silkede skind og signifikant dårligere skindkvalitet, hvorfor 40% iblanding blev anbefalet som maksimum. Andelen af fjer i produktet blev pr januar 1997 øget fra 12 til 20% og forsøg med produktet (Hejlesen og Clausen, 1999) viste, at 20% fjerkræbiprodukt kunne anvendes gennem hele vækstperioden uden negativ indflydelse på produktionsresultaterne (produktet blev ikke afprøvet med mere end 20% iblanding). Op til 50% tysk fjerkræbiprodukt (højtryksskogt) kombineret med 3% kødbenmel og 6% svinpulv i alle hold (Clausen og Hejlesen, 2003) viste, at kombinationen kunne anvendes med op til 20% fjerkræbiprodukt uden negative påvirkninger af skindlængde, -kvalitet og sundhed. Ved 30% fjerkræbiprodukt var kvaliteten derimod påvirket negativt, og ved højere iblandinger var der øget dødelighed. De store mængder fjerkræbiprodukt, kødbenmel og svinpulv sænkede foderets proteinfordøjelighed betydeligt (Clausen og Hejlesen, 2003). Yderligere er hvalpenes evne til at fordøje foderet ikke fuldt udviklet før 10 – 12 ugers alderen (Elnif & Hansen, 1987), hvorfor de kan have svært ved at håndtere den store mængde ufordøjeligt protein.

Forsøget blev gentaget i 2002 (Clausen & Hejlesen, 2004). I hold uden kødbenmel og svinepulp, men med op til 50% fjerkræbiprodukt (Løgstør) blev der ikke set negative konsekvenser for skindlængden, men der blev set faldende kvalitet ved stigende iblanding af fjerkræbiprodukt (fra 30 til 50%). Når der yderligere blev anvendt kødbenmel og svinepulp i foderet efter 6. september, kunne der uden negative konsekvenser for skindlængden anvendes op til 40% fjerkræbiprodukt kombineret med 6% kødbenmel og 9% svinepulp, eller op til 50% fjerkræbiprodukt, hvis der kun blev anvendt 3% kødbenmel og 6% svinepulp, men skindkvaliteten var påvirket negativt med stigende indhold af kødbenmel og svinepulp (Clausen & Hejlesen, 2004). Tildeling af kraftigt varmebehandlet fjerkræ alene eller i kombination med andre stærkt varmebehandlede produkter, har således en negativ betydning for fordøjeligheden, og muligvis også andre fysisk/kemiske faktorer i råvarerne. Det vil derfor være ønskeligt med andre mere skånsomme behandlingsmetoder til stabilisering af produktet. Syrnet fjerkræ (indeholder ikke fjer, konserveret med svovlsyre og mælkesyre) iblandet foderet i niveauerne 10, 20 og 30% i vækstperioden gav ingen negative konsekvenser for skindlængde og -kvalitet (Clausen & Hejlesen, 2005). Ferskt fjerkræ er en god råvare med en høj fordøjelighed og anvendes på visse fodercentraler, men også en råvare som stiller store krav til håndtering og hygiejne. Derudover laves forsøg med en lav temperatur behandling af fjerkræ for at opnå en mere skånsom behandling, og der fremstilles fjerkræmel for at øge lagerstabiliteten. Formålet med dette forsøg var at afprøve forskellige fjerkræbiprodukter over for hinanden i vækst- og pelssætningsperioden.

Materiale og metoder

I forsøget indgik 5 hold á 138 brune hanmink. To hold blev tildelt ferskt fjerkræbiprodukt (Øland) i niveauerne 40% (Ø40) eller 60 % (Ø60), to hold blev tildelt lav temperatur behandlet fjerkræ (Løgstør) i niveauerne 40% (Ltemp40) eller 60% (Ltemp60) og et hold blev tildelt fjerkræmel (Sarval) i en iblanding på 5% (Fjmel5). Fjerkræbiprodukterne erstattede industrifisk, og det højeste niveau af industrifisk var således i Fjmel5. Desuden var der i Fjmel5 10% affedt fjerkræ i den første periode, i anden periode var det udeladt.

Øland er godkendte slagtebiprodukter fra et fjerkræslagteri uden fjer (kat 3 vare) frosset straks efter slagteprocessen (ca. inden for 30 min). Lav temperatur behandlet fjerkræ er godkendte slagtebiprodukter fra fjerkræslagterier uden fjer (kat 3 vare), der er kørt til Løgstør og kogt ved skånsom temperatur og tid (intern meddelelse). Fjerkræmel er godkendte slagtebiprodukter fra fjerkræslagterier uden fjer (kat 3 vare) tørret til mel.

I forsøget blev hvalpene sat i hold i slutningen af juni og 14. juli startede forsøgsfodringen. Alle hanhvalpe blev vejet ved udsætning den 14. juli, samt 10. aug. og 20. sep.. Ved sortering 1. - 3. nov. blev hvalpene vejet, denne vægt betragtes som pelsningsvægten. Efter pelsning blev skindene længdemålt på København Fur Farm og kvalitetsbedømt af skinddommere på København Fur. Alle døde mink blev obduceret. Foderplanerne ses af Tabel 1a og 1b. Råvarerne blev analyseret inden start, og når der kom nye råvarer, hvis deres kemiske sammensætning afveg fra den gamle råvare. Herefter blev planerne ændret så energifordelingen blev holdt på det ønskede niveau. Foderets kemiske sammensætning og aminosyre sammensætning blev analyseret regelmæssigt gennem forsøgsperioden. Fodertildelingen blev registreret dagligt, og der blev opsamlet foderspild i Ø60 og Ltemp60 to gange i perioden.

TABEL 1A FODERPLANER I PERIODEN 14. JULI TIL 9. AUG. TIL UNDERSØGELSE AF FJERKRÆBIPRODUKTER MED IBLANDING AF 40 ELLER 60% ØLAND (Ø40 OG Ø60), 40 ELLER 60% LAV TEMPERATUR FJERKRÆ (LTEMP40 OG LTEMP60) OG 5% FJERKRÆMEL (FJMEL5). PROCENTINDHOLD I FODERET.

	15/7-9/8	15/7-9/8	15/7-9/8	15/7-9/8	15/7-9/8
	Ø40	Ø60	LTEMP40	LTEMP60	FJMEL5
Fiskeafskær 3-5 % fedt					8,0
Industrifisk 8-12 % fedt	32,0	14,5	29,4	10,0	48,5
Affedtet fjerkræ					10,0
Fjerkræmel					5,0
Øland	40,0	60,0			
Lav temperature fjerkræ			40,0	60,0	
Ensilage Helfisk svovlsyre	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Byg + Hvede	12,1	11,9	10,9	10,4	12,4
Hæmoglobinmel	3,00	2,04	2,33	2,96	0,58
Kartoffelprotein	0,79	1,77	3,00	3,00	1,72
Majsgluten	3,00	3,00	3,00	3,00	
Soyaolie	0,97	0,20	1,73	1,45	2,37
Svinefedt	1,94	0,40	3,47	2,91	4,74
Vit.-bl. α	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vand					0,54
Plantal					
Tørstof, %	42,0	42,0	41,0	41,0	42,0
Energi kcal / 100 g	207	204	205	205	204
Aske, %	2,3	2,4	1,7	1,5	2,9
Energifordeling P:F:K	32:53:15	32:53:15	32:53:15	32:53:15	32:53:15
% råprotein fra fjerkræ	30	45	24	35	30
Analysetal					
Tørstof, %	42	41	40	40	39
Aske, %	2,4	2,6	2,4	2,0	2,8
Energi kcal / 100 g	207	198	196	198	188
Energifordeling P:F:K	33:53:14	33:52:15	34:52:14	33:52:15	33:52:15

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMENSÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2017 (TEAMFODER, 2016);

α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 16.000 MG B1-VITAMIN; 6.500 MG B2-VITAMIN; 5.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 12.000 MG NIACIN; 150.000 MG BIOCHOLIN; 1.200 MG FOLINSYRE; 150 MG BIOTIN; 33 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU;

TABEL 1B FODERPLANER I PERIODEN 10. AUG. TIL PELSNING TIL UNDERSØGELSE AF FJERKRÆBIPRODUKTER MED IBLANDING AF 40 ELLER 60% ØLAND (Ø40 OG Ø60), 40 ELLER 60% LAV TEMPERATUR FJERKRÆ (LTEMP40 OG LTEMP60) OG 5% FJERKRÆMEL (FJMEL5). PROCENTINDHOLD I FODERET.

	10/8 PELSNING	10/8 PELSNING	10/8 PELSNING	10/8 PELSNING	10/8 PELSNING
	Ø40	Ø60	LTEMP40	LTEMP60	FJMEL5
Industrifisk 8-12 % fedt	31,9	14,5	29,4	10,0	37,2
Fjerkræmel					5,0
Øland	40,0	60,0			
Lav temperature fjerkræ			40,0	60,0	
Ensilage Helfisk svovl-syre	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Byg + Hvede	14,6	14,7	13,3	12,8	15,5
Hæmoglobinmel			0,27	0,48	0,94
Kartoffelprotein	2,16	2,94	2,45	3,00	3,70
Majsgluten	2,09	0,84	3,00	3,00	1,84
Soyaolie *	0,99	0,26	1,77	1,48	3,05
Svinefedt *	1,98	0,51	3,54	2,95	6,10
L-met	0,009	0,023	0,029	0,054	
Vit.-bl. α	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vand					20,5
Plantal					
Tørstof, %	42	42	41	41	44
Aske, %	2,3	2,4	1,7	1,5	2,1
Energi kcal / 100 g	205	202	203	203	219
Energifordeling P:F:K	28:54:18	28:54:18	28:54:18	28:54:18	28:54:18
% råprotein fra fjerkræ	34	51	27	40	21
Analysetal					
Tørstof, %	41	41	40	39	42
Aske, %	2,2	2,5	2,0	1,9	2,0
Energi kcal / 100 g	201	198	200	198	206
Energifordeling P:F:K	28:55:17	28:55:17	27:56:17	27:56:17	28:54:18

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMENSÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2017 (TEAMFODER, 2016); * SKIFT I FEDTFORHOLDET FRA 20/9 TIL PELSNING TIL 2/3 SOYAOLIE OG 1/3 SVINEFEDT; α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 16.000 MG B1-VITAMIN; 6.500 MG B2-VITAMIN; 5.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 12.000 MG NIACIN; 150.000 MG BIOCHOLIN; 1.200 MG FOLINSYRE; 150 MG BIOTIN; 33 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU;

TABEL 2 ANDELEN AF FORDØJELIGT PROTEIN FRA FJERKRÆ I PROCENT AF TOTAL FORDØJELIGT PROTEIN

	FORDØJELIGT FJERKRÆPROTEIN I % AF TOTAL FORDØJELIGT PROTEIN	
	15/7 - 9/8	10/8 - PELSNING
Ø40	30	34
Ø60	45	52
Ltemp40	26	30
Ltemp60	39	45
Fjmel5	29	21

Andelen af fordøjeligt protein fra fjerkræ i procent af total fordøjeligt protein (Tabel 2) varierede fra 26 til 45% i første periode. Procentandelen var lavest i Ltemp40 og højest i Ø60 (Tabel 2). I anden periode var procentandelen højest i Ø60 og lavest i Fjmel5, det lave niveau i Fjmel5 skyldtes, at der i denne periode ikke var affedt fjerkræ i foderet.

Fjerkræbiprodukternes analyserede kemiske sammensætning (Tabel 3) blev anvendt i foderoptimeringsprogrammet.

TABEL 3 FJERKRÆ RÅVARERNES KEMISKE SAMMENSÆTNING, ANALYSEVÆRDIER FØR FORSØGSSTART

	TØRSTOF, %	PROTEIN, %	FEDT, %	ASKE, %	FKP α
Fjerkræmel (Sarval)					
Analyseret	97,6	67,5	14,5	10,6	85
Lav temperatur fjerkræ					
Analyseret	24,3	10,2	11,4	1,1	81,3 in vitro
Øland					
Analyseret	31,1	12,3	15,8	2,7	87,5

α TABELVÆRDI

Inden forsøgsstart var der udbrud af en virusinfektion på farmen, der kan have bevirket en øget dødelighed i starten af vækstperioden i holdene.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Proceduren PROC GLM (ss4), LSMEANS / PDIF blev anvendt med 5% som signifikansniveau ved beregninger af vægteforskelle, tilvækst og skindlængde samt ved skindkvalitet. Silkethed og fyldighed blev analyseret med proceduren PROBIT eller x2. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

Resultater og diskussion

Resultaterne af de kemiske foderanalyser ses af Tabel 1a og 1b. Der var tilfredsstillende overensstemmelse med de planlagte værdier, dog var andelen af omsættelig energi fra protein lidt i overkanten i starten af vækstperioden især i Ltemp40 (Tabel 1a), og lidt i underkanten i perioden fra medio august til pelsning i Ltemp40 og Ltemp60 (Tabel 1b).

Analysen af foderets aminosyre sammensætning ses af Tabel 4a og 4b. For en del af aminosyrerne var der et underindhold i forhold til de planlagte værdier. Anbefalingerne blev overholdt for alle aminosyrer i holdet med fjermel (Tabel 4a og 4b). I Ø40 var der i begge perioder et underindhold af met og cys i forhold til anbefalingerne (Tabel 4a, 4b), i anden periode var der desuden underindhold af his, phe, tyr og val i Ø40, og af phe, leu og val i Ø60 (Tabel 4b). Ltemp40 havde et underindhold af met i forhold til anbefalingerne i første periode (Tabel 4a), og Ltemp60 havde et underindhold af val i forhold til anbefalingerne i anden periode (Tabel 4b).

TABEL 4A. FODERETS ANALYSEREDE AMINOSYRESAMMENSÆTNING SAMMENHOLDT MED PLANTALLENE I PERIODEN FRA DEN 15. JULI TIL 9. AUG., G FORDØJELIGE AMINOSYRER / 100 KCAL

	15/7-9/8 Ø40		15/7-9/8 Ø60		15/7-9/8 LTEMP40		15/7-9/8 LTEMP60		15/7-9/8 FJMEL5		
	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Anbefaling
met	0,14	0,16	0,16	0,16	0,14	0,16	0,16	0,16	0,17	0,16	0,16
cys	0,047	0,07	0,062	0,075	0,076	0,083	0,066	0,087	0,073	0,066	0,060
lys	0,54	0,53	0,52	0,52	0,38	0,50	0,57	0,48	0,58	0,50	0,27
thr	0,24	0,26	0,25	0,27	0,28	0,27	0,26	0,27	0,24	0,26	0,17
trp	0,079	0,082	0,078	0,079	0,085	0,078	0,076	0,079	0,070	0,072	0,050
his	0,20	0,25	0,18	0,22	0,19	0,22	0,23	0,23	0,19	0,18	0,16
phe	0,32	0,36	0,31	0,35	0,33	0,37	0,37	0,38	0,29	0,29	0,29
tyr	0,19	0,23	0,20	0,25	0,22	0,25	0,22	0,25	0,18	0,21	0,18
leu	0,66	0,69	0,52	0,67	0,65	0,71	0,67	0,73	0,52	0,52	0,50
ile	0,27	0,27	0,28	0,29	0,25	0,30	0,27	0,29	0,30	0,29	0,23
val	0,43	0,44	0,40	0,43	0,42	0,46	0,45	0,48	0,41	0,38	0,35
arg	0,37	0,39	0,38	0,41	0,40	0,40	0,39	0,41	0,38	0,41	0,30

DER ER ANVENDT PLANTAL FOR AMINOSYRE FORDØJELIGHEDS KVOTIENTER; # MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER
FULGTE ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER 2017 (TEAMFODER, 2016);

TABEL 4B FODERETS ANALYSEREDE AMINOSYRESAMMENSÆTNING SAMMENHOLDT MED PLANTALLENE I PERIODEN FRA DEN 10. AUG. TIL PELSNING, G FORDØJELIGE AMINOSYRER / 100 KCAL

	10/8 – PELSNING Ø40		10/8 – PELSNING Ø60		10/8 – PELSNING LTEMP40		10/8 – PELSNING LTEMP60		10/8 – PELSNING FJMEL5		
	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Anbefaling
met	0,14	0,16	0,16	0,16	0,17	0,16	0,17	0,16	0,17	0,16	0,16
cys	0,057	0,068	0,064	0,069	0,064	0,079	0,067	0,084	0,061	0,059	0,060
lys	0,43	0,47	0,49	0,46	0,47	0,41	0,45	0,39	0,51	0,42	0,27
thr	0,21	0,25	0,24	0,24	0,22	0,24	0,24	0,23	0,25	0,22	0,17
trp	0,060	0,067	0,063	0,068	0,061	0,062	0,064	0,062	0,068	0,064	0,050
his	0,15	0,17	0,17	0,17	0,17	0,16	0,19	0,16	0,19	0,16	0,16
phe	0,25	0,29	0,27	0,29	0,36	0,30	0,32	0,31	0,32	0,29	0,29
tyr	0,17	0,22	0,20	0,22	0,29	0,23	0,18	0,23	0,21	0,22	0,18
leu	0,50	0,52	0,46	0,52	0,52	0,58	0,67	0,59	0,60	0,53	0,50
ile	0,27	0,29	0,26	0,28	0,26	0,29	0,30	0,29	0,30	0,26	0,23
val	0,34	0,36	0,33	0,35	0,37	0,37	0,34	0,38	0,40	0,35	0,35
arg	0,32	0,37	0,41	0,38	0,36	0,36	0,38	0,37	0,38	0,33	0,30

DER ER ANVENDT PLANTAL FOR AMINOSYRE FORDØJELIGHEDS KVOTIENTER; # MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER
FULGTE ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER 2017 (TEAMFODER, 2016);

Der var signifikant forskel i vægtudviklingen gennem vækstperioden (Tabel 5). Ø40 og Ø60 var de tungeste i hele perioden august til pelsning, mens Ltemp60 havde den la-

veste vægt. En lidt lavere met og cys i hele vækstperioden i Ø40 i forhold til anbefalingerne (Tabel 4), havde således ikke nogen negativ indflydelse på hvalpenes vækst.

TABEL 5 VÆGTUDVIKLINGEN Gennem VÆKSTPERIODEN, GRAM

HOLD	UDSÆTNINGSVÆGT 14/7	VÆGT 10/8	VÆGT 20/9	VÆGT 1/11
Ø40	1302 (114)	2215 (250) a	3304 (383) a	3797 (440) a
Ø60	1255 (128)	2163 (270) a	3234 (440) a	3657 (533) ab
Ltemp40	1271 (122)	2067 (300) b	3091 (515) b	3564 (610) bc
Ltemp60	1284 (125)	2037 (407) b	2983 (628) b	3452 (671) c
Fjmel5	1262 (130)	2058 (341) b	3052 (457) b	3550 (561) bc
	NS	< 0,0001	< 0,0001	0,0002

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER FORSKEL.

Det samme afspejler sig i tilvæksten indtil 20. sep. (Tabel 6). I perioden 20. sep. til pelsning havde Ø40 den numerisk højeste tilvækst dernæst Fjmel5 og Ltemp40, hvorimod Ø60 og Ltemp60 havde signifikant mindre tilvækst end

Ø40 (Tabel 6). Andelen af industrifisk var højest i Fjmel5 og lavest i Ltemp60, hvilket kan være en ikke uvæsentlig faktor.

TABEL 6 TILVÆKST Gennem VÆKSTPERIODEN, GRAMM

HOLD	TILVÆKST, GRAM			
	14/7 – 10/8	10/8 – 20/9	20/9 – 1/11	14/7 – 1/11
Ø40	906 (132) a	1098 (194) a	501 (205) a	2497 (353) a
Ø60	899 (147) a	1071 (243) ab	429 (237) bc	2395 (447) a
Ltemp40	781 (162) bc	1013 (337) bc	456 (252) abc	2271 (532) b
Ltemp60	739 (240) c	895 (374) d	393 (300) c	2123 (599) c
Fjmel5	774 (202) b	951 (309) cd	493 (297) ab	2245 (483) bc
	< 0,0001	< 0,0001	0,01	< 0,0001

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL.

Der var tendens til en forskel i skindlængden (Tabel 7), således at især Ø40 og dernæst Ø60 var længere end de øvrige hold, mens Ltemp60 var 2 cm kortere end Ø40. Der var ikke forskel i skindkvaliteten (Tabel 7). Et lavere indhold af aminosyrer end normen i Ø40 og Ø60 (Tabel 4a og 4b), havde således ikke negativ betydning for hverken skindlængden eller -kvaliteten. Tidligere resultater fra højtrykskogte fjerkræbiprodukter (Clausen og Therkildsen, 1996; Clausen og Hejlesen, 2003; 2004) har i modsætning til denne undersøgelse, ikke vist forskel i tilvæksten, men derimod forskel i skindkvalitetsparametrene.

Der var ikke forskel i andelen af silkede, flade og fyldige skind i de 5 forsøgshold (Tabel 8).

TABEL 7 KVALITETS PARAMETRENE VED PELSNING

HOLD	KVALITET, 1-12 #	SKINDLÆNGDE, CM
Ø40	6,4 (2,4)	98,5 (4,2)
Ø60	6,7 (2,2)	97,9 (5,6)
Ltemp40	6,8 (2,4)	97,2 (6,1)
Ltemp60	6,5 (2,1)	96,5 (5,3)
Fjmel5	6,5 (2,4)	97,0 (5,5)
	NS	NS (0,08)

KVALITET ER VURDERET PÅ EN SKALA FRA 1 – 12 MED 12 SOM BEDST; TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL.

TABEL 8 SILKEDE SKIND, FLADE OG FYLDIGE SKIND OG SKIND MED VÅD BUG

HOLD	SILKET, %	FLADE	ULD, % NORMALE	FYLDIGE
Ø40	45,0	10,6	79,8	9,6
Ø60	44,0	6,7	74,0	19,3
Ltemp40	49,0	9,4	71,8	18,8
Ltemp60	36,0	9,4	81,1	9,4
Fjmel5	48,0	11,9	73,7	14,4
	NS		NS	

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL.

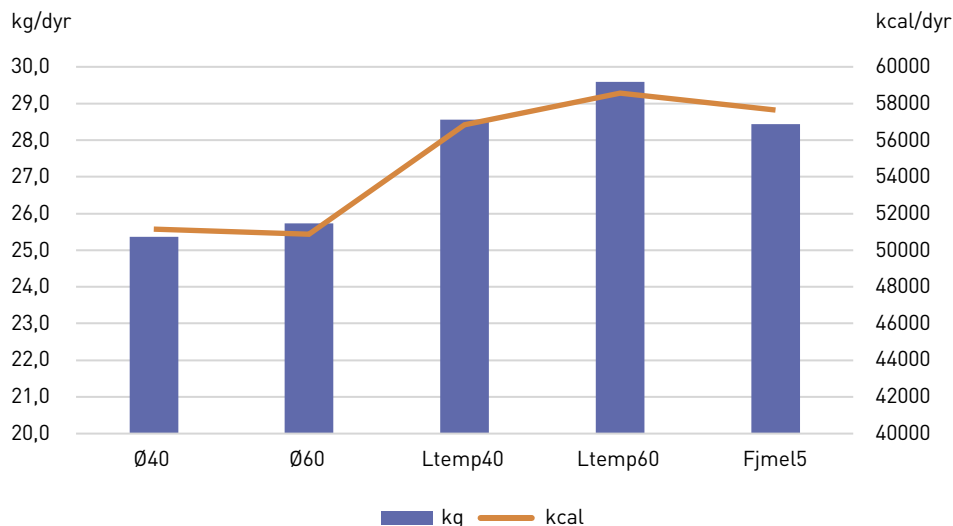
Der var tendens til, at frekvensen af døde dyr i holdene var forskellig (Tabel 9). I alle hold var der nogle dyr, der var utrivelige og døde kort efter udsætning, hvilket tillægges en virusinfektion på farmen i starten af juli. I Fjmel5, Ltemp40 og især i Ltemp60 var der utrivelige mink helt til sep. – okt., og dødelighed i Ltemp60 var meget høj. Dette indikerer, at et meget højt niveau af varmebehandlet fjerkræ kan have negativ effekt på dyrenes sundhed.

TABEL 9 FREKVENSEN AF DØDE DYR (HANNER OG HUNNER) I HOLDENE

	PCT DØDE
Ø40	2,8 (b)
Ø60	2,3 (b)
Ltemp40	3,2 (b)
Ltemp60	7,0 (a)
Fjmel5	4,4 (ab)
	NS (0,06)

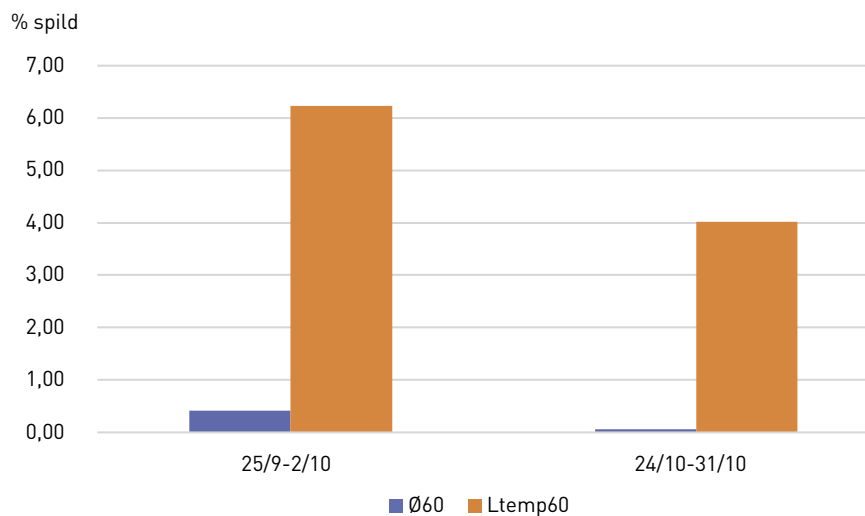
NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE

Den tildelte fodermængde (kg og kcal) i perioden fra udsætning til pelsning var væsentlig forskellig mellem holdene (Figur 1). Ø40 og Ø60 fik tildelt betydeligt mindre foder end de andre hold, trods det havde de fra udsætning til pelsning den bedste tilvækst (Tabel 6).



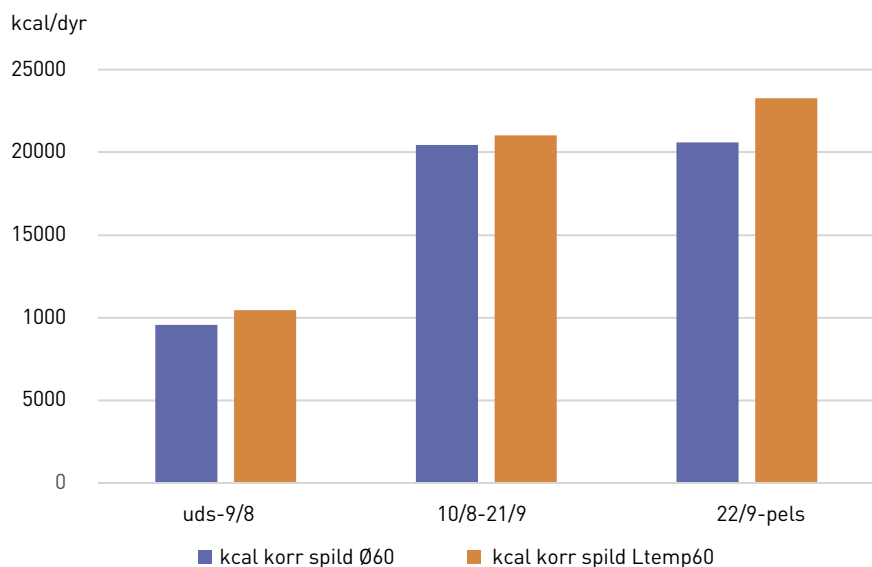
FIGUR 1 UDFODRET FODERMÆNGDE, KG OG KCAL TILDELT PR DYR I PERIODEN

Den store forskel i fodertildeling var delvis forårsaget af et større foderspild i Ltemp holdene frem for Ø holdene (Figur 2). Spild blev målt 2 gange i Ø60 og Ltemp60 (Figur 2) i sep. – okt.. Havde spild været målt allerede ved start af forsøget, ville det formodentlig have været højere, da der typisk spildes mest lige efter udsætning (Clausen et al., 2010, 2019). Spild var lavt i Ø60, hvorimod det var højt i Ltemp60 på grund af en ændret konsistens af foderet.



FIGUR 2 PROCENT SPILD OPSAMLET I SEP. OG OKT.

Efter korrigerering for foderspild, ses stadig det største foderforbrug i Ltemp60 frem for Ø60 (Figur 3).



FIGUR 3 FODERTILDELING (KCAL/DYR) KORRIGERET FOR SPILD

Konklusion

Forsøg med tre forskellige typer processeret fjerkræ, ferskt fjerkræ (Ø40 og Ø60), lav temperatur behandlet fjerkræ (Ltemp40 og Ltemp60) samt fjerkræmel (Fjmel5) i kombination med industrifisk, viste højest tilvækst, overlevelse og foderudnyttelse ved det ferske produkt, på trods af at flere af aminosyrerne lå under de nuværende anbefalinger i perioden.

Referencer

Clausen, T.N., Blaabjerg, K & Larsen, P.F., 2019. Reducering af foderspild i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2018, 30-33. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2005. Syrnet fjerkræaffald til mink i vækstperioden. Indflydelse på sundhed, tilvækst og pelskvalitet. Faglig Årsberetning 2004, 125 - 127. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2004. Fjerkræaffald til mink i vækstperioden kombineret med kødbenmel og svinepulp i pelssætningsperioden, Faglig Årsberetning 2003, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Herningvej 112 C, 7500 Holstebro 85 - 89.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2003. Fjerkræaffald kombineret med svinepulp og kødbenmel i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2002, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed. 39 - 42.

Clausen, T.N. & Therkildsen, N., 1996. Afprøvning af store mængder fjerkræaffald til mink i vækstperioden 1994. Faglig Årsberetning 1995, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed. 111-115.

Clausen, T. N., Blæsbjerg, M. & Sandbøl, P. 2010. Reducering af foderspild i vækstperioden ved hjælp af metalplader i burene. Faglig Årsberetning 2009, 147-150, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Elnif, J. & Hansen, N.E., 1987. Sammenligning af næringsstofferne fordøjelighed hos minkhvalpe og udvoksede hanner (pastel type). NJF-Seminar 128, Tromsø.

Hejlesen, C. & Clausen, T.N., 1999. Fjerkræaffald med 20 % fjer til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 1998, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed. 67-72.

Teamfoder, 2016. Anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2017. Intern Rapport, København Rådgivning 2016 ✕

EFFEKT AF OP TIL 5% FLUELARVEMEL I FODER TIL MINK I VÆKST- OG PELS-SÆTNINGSPERIODEN

Af Tove N. Clausen, Kevin Byskov & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge effekten af at inkludere op til 5% fluelarvemel i foder til mink i vækst- og pelssætningsperioden. I forsøget indgik 3 hold á 138 brune hanmink hvalpe: ét kontrolhold (KON) uden fluelarvemel og to forsøgshold med enten 2,5% (FI2,5) eller 5% (FI5) fluelarvemel (black soldier flies (*Hermetia Illucens*)). Ud fra de foreliggende resultater, ser det ud til, at der er en negativ effekt på vækst og skindkvalitet, ved at anvende 2,5 eller 5% fluelarvemel. En lavere fordøjelighed af både protein (71%, mod forventet 82%) og fedt (88%, mod forventet 90%) i fluelarvemelet end antaget kan være en medvirkende årsag til dette. Ligeledes kan et underindhold af visse aminosyrer i forhold til anbefalingerne have påvirket væksten, der var imidlertid også underindhold i KON holdet. Hvorvidt man kan opnå bedre resultater ved at anvende fluelarve pulp, der ikke har været udsat for en varmebehandling og derfor har en noget højere protein fordøjelighed, bør undersøges i fremtidige studier.

Clausen, T.N., Byskov, K. & Larsen, P.F., 2019. Effekt af op til 5% fluelarvemel i foder til mink i vækst- og pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2018, 80-85. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: tilvækst, skindkvalitet, skindlængde, fluelarvemel

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate the effect of including up to 5% fly larva meal in feed for mink during the growing and furring period. The experiment comprised 3 groups of 138 brown male kits. The control group (KON) was fed without fly larva meal whereas the two experimental groups were fed with 2.5% (FI2.5) or 5% (FI5) fly larva meal (black soldier fly meal (*Hermetia Illucens*)). Based on the available results, it appears that there is a negative effect on growth and skin quality, using 2.5 or 5% fly larva meal. A lower digestibility than expected of both protein (71%, against expected 82%) and fat (88%, against expected 90%) in the fly larva meal may be a contributing factor to this. Similarly, a lower content of certain amino

acids in relation to some of the recommendations may have affected the growth, however the amino acid content in the KON group was also below some of the recommendations. Whether we could achieve better results using fly larva pulp, that has not been subjected to heat treatment and therefore has a somewhat higher protein digestibility, should be investigated in future studies.

Clausen, T.N., Byskov, K. & Larsen, P.F., 2019. Effect of up to 5% fly larva meal in feed for mink during the growing and furring period. Annual Report 2018, 80-85. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: growth, fur quality, skin length, black soldier fly

Indledning

Anvendelse af insekter som proteinkilde til mennesker og dyr har stor fokus i disse år og bliver undersøgt fra mange forskellige sider. Indenfor fjerkræ og svineproduktionen er der stor interesse især for fluelarver. Fordelene ved at kunne anvende fluelarver er mange, dels kan larverne produceres i Danmark og dermed reducere import af dyre proteinkilder, dels kan larverne vokse på mange forskellige substrater, f.eks. husholdningsaffald, restprodukter fra brygning af øl, rester fra kartofler, mælkemelasse, gylle etc., dels kræver larverne ikke meget plads, og de har en lav udledning af drivhusgasser samt en høj foderkonverteringsrate og tilvæksthastighed. Desuden har fluelarverne et højt næringsindhold og en god fordøjelighed [Byskov, 2016] ofte på niveau med fiskemel. Der er dog visse uafklarede smitteforebyggende tiltag og hygiejne udfordringer, der skal på plads, førend larverne umiddelbart kan anvendes.

Formålet med forsøget var at undersøge effekten af at inkludere op til 5% fluelarvemel i foder til mink i vækst- og pelssætningsperioden.

Materiale og metoder

I forsøget indgik følgende 3 hold á 138 brune hanmink: ét kontrolhold (KON) uden fluelarve mel og to forsøgshold med enten 2,5% (FI2,5) eller 5% (FI5) fluelarve mel. Fluelarve mel fremstilles af laver af black soldier flies (Her-

metia Illucens) (Figur 1). Larverne får deres næring fra foderstoffer som hvedekim, rug, majs og vand. Når larverne er færdigvokset produceres fluelarve pulp, men for at sikre en god bakteriologisk kvalitet af produktet blev det tørret og formålet til mel.

Minkhvalpene blev sat i forsøgshold i slutningen af juni og 14. juli startede forsøgsfodringen. Alle hanhvalpe blev vejet ved udsætning den 14. juli, samt 10. aug. og 20. sep.. Ved sortering 1. - 3. nov. blev hvalpene vejet, denne vægt betragtes som pelsningsvægten. Efter pelsning blev skindene længdemålt på Kopenhagen Farm og kvalitetsbedømt af avlere på Kopenhagen Fur. Alle døde mink blev obduceret. Foderplanerne ses af Tabel 1. Fluelarve melet og nye råvarer blev analyseret inden brug. Hvis deres kemiske sammensætning afveg fra den forudgående råvare,



FIGUR 1 LARVER AF
BLACK SOLDIER FLIES
(HERMETIA ILLUCENS)

blev planerne ændret så energifordelingen blev holdt på det ønskede niveau. Foderets kemiske sammensætning og aminosyresammensætning blev analyseret regelmæssigt gennem forsøgsperioden.

TABEL 1 FODERPLANER TIL UNDERSØGELSE AF STIGENDE INDHOLD AF FLUELARVE MEL, MED IBLANDING AF 0, 2,5 ELLER 5% FLUELARVE MEL (KON, FL2,5 OG FL5). PROCENTINDHOLD I FODERET

HOLD	15/7-9/8	15/7-9/8	15/7-9/8	10/8- PELSNING	10/8- PELSNING	10/8- PELSNING
	KON	FL2,5	FL5	KON	FL2,5	FL5
Fiskeafskær 3-5 % fedt	8,0	FL2,5	FL5	KON	FL2,5	FL5
Industrifisk 8-12 % fedt	40,6	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Affedtet fjerkræ	18,8	39,3	39,2	48,1	40,0	32,5
Fluelarve mel		20,0	20,0	10,0	10,0	10,0
Ensilage Helfisk S-syre	6,0	2,5	5,0		2,5	5,0
Byg + Hvede	12,2	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Hæmoglobinmel	2,38	12,2	12,2	14,8	14,7	14,7
Kartoffel protein	2,00	2,50	1,71	0,31	0,18	0,66
Majsgluten	2,00			2,00	2,50	2,00
Soyaolie	2,63	1,74	0,50	2,00	1,19	0,50
Svinefedt	5,27	2,52	2,40	2,65 *	2,64 *	2,64 *
L-methionin		5,05	4,79	5,30 *	5,29 *	5,28 *
Vit.-bl. α	0,20			0,007		
Vand		0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Plantal						
Tørstof, %	42,0	42,0	42,0	42,0	42,0	42,0
Aske, %	2,5	2,6	2,8	2,4	2,5	2,6
Energi kcal / 100 g	206	202	198	206	202	199
Energifordeling P:F:K	32:53:15	32:53:15	32:53:15	28:54:18	28:54:18	28:54:18
Analysetal						
Tørstof, %	39,4	40,0	39,9	39,3	39,5	39,9
Aske, %	2,3	2,7	3,0	2,0	2,3	2,3
Energi kcal / 100 g	192	189	186	192	190	189
Energifordeling P:F:K	33:52:15	33:52:15	33:53:14	29:53:18	28:54:18	28:53:19

MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2017 (TEAMFODER, 2016); * SKIFT I FEDTFORHOLDET FRA 20/9 TIL PELSNING TIL 2/3 SOYAOLIE OG 1/3 SVINEFEDT; α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 16.000 MG B1-VITAMIN; 6.500 MG B2-VITAMIN; 5.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 12.000 MG NIACIN; 150.000 MG BIOCHOLIN; 1.200 MG FOLINSYRE; 150 MG BIOTIN; 33 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU.

Inden forsøgsstart var der udbrud af virusinfektion på farmen, hvilket kan have bevirket en øget dødelighed i starten af vækstperioden i holdene.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Proceduren PROC GLM (ss4), LSMEANS / PDIFB blev anvendt med 5% som signifikansniveau ved beregninger af vægteforskelle, tilvækst og skindlængde samt ved skindkvalitet. Silkethed og fyldighed blev ana-

lyseret med proceduren PROBIT eller χ^2 . Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

Resultater og diskussion

Der var tilfredsstillende overensstemmelse mellem den planlagte og den analyserede kemiske fodersammensætning gennem perioden (Tabel 1). Fluelarve melets kemiske sammensætning ses af Tabel 2.

TABEL 2 FLUELARVE MELETS KEMISKE SAMMENSÆTNING SAMT FORVENTET FORDØJELIGHED ANTAGET UD FRA FISKEMEL

TØRSTOF, %	PROTEIN, %	FEDT, %	ASKE, %	ANTAGET FKP, % #	ANTAGET FKF, % □
93,9	51,0	14,7	11,7	82	90

FORDØJELIGHEDSKOEFFICIENT PROTEIN; □ FORDØJELIGHEDSKOEFFICIENT FEDT;

Ved opstart af det aktuelle forsøg forelå der endnu ikke fordøjelighedskoefficienter for fluelarve mel. Det blev derfor bestemt at anvende fordøjelighedskoefficienterne for fiskemel, idet det forventes, at disse svarer nogenlunde til fordøjelighedskoefficienterne for fluelarve mel. Efterfølgende viste et fordøjelighedsforsøg med fluelarve mel til mink imidlertid, at fordøjelighedskoefficienterne for fluelarve mel var noget lavere for både protein (71%), fedt (88%) og kulhydrat (37%) end forventet (Byskov, 2017). Ved genberegning af foderplanerne med de analyserede fordøjeligheder af fluelarve mel resulterede det i

en sænkning i den forventede andel af energi fra protein i FL5 til 31,5% i perioden udsætning til medio august, og til 27,5% i perioden fra august til pelsning. Det er et halvt procentpoint lavere end planlagt. Anbefalingerne til foderets aminosyreindhold (Teamfoder, 2016) var overholdt for alle hold i perioden fra udsætning til medio august (Tabel 3) på nær FL5, hvor der var et lidt lavere analyseret indhold af methionin. I perioden fra 10. aug. til pelsning var der i alle hold et lavere indhold af nogle af aminosyrerne end anbefalet (Tabel 3).

TABEL3. FODERETS ANALYSEREDE AMINOSYRESAMMENSÆTNING SAMMENHOLDT MED PLANTALLENE, G FORDØJELIGE AMINOSYRER / 100 KCAL

	15/7 TIL 9/8						10/8 TIL PELSNING						
	KON		FL2,5		FL5		KON		FL2,5		FL5		
	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Analyse	Plan	Anbefaling
met	0,16	0,16	0,17	0,16	0,15	0,17	0,17	0,16	0,17	0,16	0,15	0,16	0,16
cys	0,070	0,08	0,070	0,076	0,063	0,075	0,068	0,072	0,058	0,071	0,060	0,068	0,060
lys	0,56	0,52	0,58	0,52	0,52	0,53	0,44	0,44	0,45	0,45	0,52	0,47	0,27
thr	0,27	0,28	0,28	0,27	0,25	0,27	0,22	0,24	0,22	0,25	0,25	0,25	0,17
trp	0,086	0,075	0,088	0,075	0,084	0,075	0,062	0,061	0,068	0,062	0,064	0,065	0,050
his	0,22	0,23	0,23	0,23	0,20	0,22	0,13	0,16	0,15	0,16	0,18	0,17	0,16
phe	0,35	0,36	0,35	0,34	0,30	0,32	0,26	0,29	0,26	0,29	0,28	0,29	0,29
tyr	0,19	0,24	0,19	0,22	0,18	0,22	0,17	0,22	0,19	0,22	0,18	0,22	0,18
leu	0,68	0,67	0,70	0,65	0,59	0,60	0,52	0,55	0,49	0,53	0,46	0,53	0,50
ile	0,27	0,29	0,30	0,28	0,28	0,30	0,27	0,29	0,25	0,30	0,22	0,29	0,23
val	0,42	0,45	0,45	0,44	0,39	0,43	0,31	0,36	0,35	0,37	0,35	0,37	0,35
arg	0,41	0,40	0,46	0,41	0,41	0,42	0,33	0,36	0,33	0,36	0,39	0,37	0,30

DER ER ANVENDT PLANTAL FOR AMINOSYRE FORDØJELIGHEDS KVOTIENTER; # MINDSTEKRAV TIL AMINOSYRER FULGTE ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER 2017 (TEAMFODER, 2016);

Ved udsætning var der ikke signifikant forskel mellem hvalpenes vægt, men i sep. var der en tendens, og ved vejning før pelsning havde kontrolholdet en højere vægt end begge forsøgshold (Tabel 4).

TABEL 4 VÆGTUDVIKLING Gennem VÆKSTPERIODEN, GRAM

HOLD	UDSÆTNINGS VÆGT 14/7	VÆGT 10/8	VÆGT 20/9	VÆGT 1/11
Kon	1214 (200)	2105 (259)	3142 (446)	3676 (472) a
Fl2,5	1206 (229)	2125 (258)	3044 (426)	3547 (509) b
Fl5	1188 (238)	2056 (280)	3030 (442)	3506 (539) b
	NS	NS	NS (0,08)	0,03

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER FORSKEL.

Der var tendens til lavere tilvækst allerede i perioden udsætning til medio aug. i Fl5 holdet (Tabel 5). Tilvæksten fra aug. til 20. sep. samt tilvæksten i hele perioden var signifikant bedst i kontrolholdet, hvorimod der ikke var forskel i tilvæksten fra sep. til pelsning.

TABEL 5 TILVÆKST Gennem VÆKST- OG PELSSÆTNINGSPERIODEN, GRAM

HOLD	TILVÆKST, GRAM			
	14/7 – 10/8	10/8 – 20/9	20/9 – 1/11	14/7 – 1/11
Kon	878 (141)	1051 (202) a	497 (247)	2444 (415) a
Fl2,5	898 (146)	918 (235) b	510 (215)	2322 (440) b
Fl5	858 (136)	969 (238) b	466 (235)	2307 (427) b
	NS (0,08)	< 0,0001	NS	0,02

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER FORSKEL.

Der var ikke forskel i skindlængderne mellem holdene (Tabel 6), men der var en signifikant bedre kvalitet i kontrolholdet frem for hold med 2,5 eller 5% fluelarvemel.

TABEL 6 SKINDKVALITET OG SKINDLÆNGDE

HOLD	SKINDLÆNGDE, CM	KVALITET, 1-12 #
Kon	97,3 (5,0)	7,1 (2,5) a
Fl2,5	96,5 (5,2)	6,6 (2,6) b
Fl5	96,0 (6,1)	6,4 (2,4) b
	NS	0,007

KVALITET ER VURDERET PÅ EN SKALA FRA 1 – 12 MED 12 SOM BEDST; TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE. FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER, AT DER ER FORSKEL.

Ligeledes var der signifikant bedre uld i kontrolholdet frem for FL5 (Tabel 7). Uanset at der var flest silkede skind i kontrolholdet, var der ikke signifikant forskel mellem holdene.

TABEL 7 FREKVENSEN AF SILKEDE, FLADE OG FYLDIGE SKIND, SAMT SKIND MED VÅD BUG

HOLD	SILKET, %	ULD, %			
		FLADE	NORMALE	FYLDIGE	P
Kon	52,0	5,8	71,9	22,3	a
FL2,5	41,0	11,8	70,9	17,3	ab
FL5	45,0	13,2	75,2	11,6	b
	NS	0,02			

TALLENE I PARENTES ER SPREDNINGEN. NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE, FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER FORSKEL

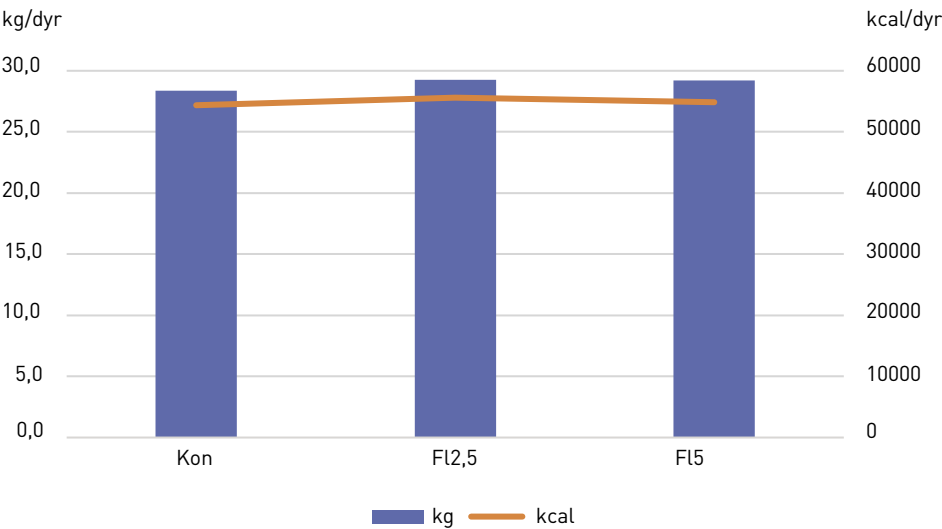
TABEL 8 FREKVENSEN AF DØDE DYR (HANNER OG HUNNER) I HOLDENE

HOLD	PROCENT DØDE
Kon	4,4
FL2,5	3,3
FL5	3,4
	NS

Der var ikke forskel i frekvensen af døde dyr i holdene (Tabel 8).

Fodertildelingen pr dyr var ens i de tre hold (Figur 2).

NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE.



FIGUR 2 FODERTILDELINGEN I HELE PERIODEN

I perioden fra 10. aug. til pelsning var der i alle hold lavere indhold af nogle af aminosyrerne end anbefalet. Det er vanskeligt at konkludere, om dette underindhold er en medvirkende årsag til den ringere vækst og kvalitet i forsøgsholdene, idet afvigelserne var i alle hold (Tabel 3). Yderligere gav den lavere fordøjelighed af protein i fluelarvemelet end antaget en sænkning i andelen af energi fra protein med en halv procentenhed i forhold til det planlagte. Det er også muligt, at foderets smag har haft betydning, men omvendt har fodertildelingen været ens imellem forsøgsholdene.

Konklusion

Ud fra de foreliggende resultater, ser det ud til, at der er en negativ effekt på vækst og skindkvalitet, ved at anvende 2,5 eller 5% fluelarvemelet. En lavere fordøjelighed af proteinet i fluelarvemelet end antaget kan være en medvirkende årsag til dette. Ligeledes kan et underindhold af visse aminosyrer i forhold til anbefalingerne have haft betydning, der var imidlertid også underindhold i KON holdet. Hvorvidt man kan opnå bedre resultater ved at anvende fluelarve pulp, der ikke har været udsat for en varmebehandling og derfor har en noget højere protein fordøjelighed, bør undersøges i fremtidige studier.

Referencer

- Byskov, K., 2017. Rapport for fordøjelighedsforsøg med mink (Neovison vison)
Mel af Black Soldier Fly larver (*Hermetia illucens*) (1747F)
- Byskov, K., 2016. Rapport for fordøjelighedsforsøg med mink (Neovison vison)
Larver af Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) (1627F)
- Teamfoder, 2016. Anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2017. Intern Rapport, København Rådgivning 2016 ✕



FODRING MED HØJ ANDEL VEGETABILSKESKE PROTEINER TIL MINK HUNNER I DIEPERIODEN

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Sammendrag

Formålet med forsøget var at undersøge, hvorvidt en høj andel af vegetabiliske proteindråvarer, bestående af kartoffelprotein, majs gluten, sojaprotein, ærteprotein og hvedegluten, kan anvendes til hunner og hvalpe i dieperioden. I forsøget indgik to hold á 130 brune hunner med kuld født i perioden 27. april til 2. maj. Holdene fik fra 20. april foder, hvor andelen af vegetabiliske proteindråvarer udgjorde 9,9% eller 3,8% svarende til, at andelen af fordøjeligt protein fra vegetabiliske råvarer var hhv. 33,6 og 13,2%.

Fodring med 9,9% vegetabiliske proteindråvarer i dieperioden frem for 3,8% resulterede i signifikant reduceret hvalpetilvækst fra dag 28 til dag 42 efter fødsel. Der var ikke forskel i hunnernes vægt og i hvalpeoverlevelse i perioden.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Fodring med høj andel vegetabiliske proteiner til mink hunner i dieperioden. Faglig Årsberetning 2018, 86-89. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: hvalpevægte, kuld størrelse, hvalpeoverlevelse, vegetabiliske proteiner, dieperioden

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate whether a high proportion of vegetable protein sources, consisting of potato protein, corn gluten, soy protein, pea protein and wheat gluten can be used to female mink and kits in the lactation period. The experiment comprised two groups of 130 brown females with litter born in the period April 27th to May 2nd. From April 20th the groups were fed with a feed, where vegetable protein sources amounted 9.9% or 3.8% corresponding to that the proportion of digestible protein from the vegetable protein sources was 33.6 and 13.2%, respectively.

Feeding with 9.9% vegetable protein ingredients in the lactation period compared to 3.8% significantly reduced the growth of the mink kits from day 28 to day 42. There was no difference in weight of females and in kit survival during the period

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Feeding with a high proportion of vegetable proteins to female mink in the

lactation period. Annual Report 2018, 86-89. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: body weight, litter size, kit survival, vegetable protein, lactation period

Indledning

Råvareforsyningen af animalske biprodukter til minkfoder er under pres, idet de gode letfordøjelige animalske proteindråvarer efterstræbes af Pet food industrien. Der er imidlertid store mængder vegetabiliske råvarer til rådighed. Vegetabiliske råvarer indeholder imidlertid skadelige stoffer, som skal fjernes fra råvaren, før mink kan tåle det. Dette sker typisk ved afskalling, varmebehandling, enzymbehandling eller kemiske processer. De vegetabiliske proteindråvarer har ligeledes en noget anderledes aminosyresammensætning end animalsk protein, og derfor kan det være nødvendigt med tilsætning af visse aminosyrer, især methionin, for at dække dyrenes behov.

Tidligere forsøg med tildeling af toastede soyabønner til minkhvalpe i vækstperioden viser, at der kan anvendes omkring 4% i foderet (Clausen & Hejlesen 2000a, 2000b, 2002; Hejlesen & Clausen 2001) uden negative konsekvenser for skindstørrelse og -kvalitet. Varmebehandlede ærter kan tilsvarende anvendes med op til 9-10% af foderblandingen til mink i vækstperioden (Bjergegaard et al., 1995; Clausen & Hejlesen, 2002). Raps har været afprøvet som proteindråvar til mink i adskillige vækstforsøg (Hillemann, 1985; Hillemann et al., 1989; Hillemann & Lyngs, 1991; Bjergegaard et al., 1995). Generelt har resultaterne været positive med hensyn til skindkvalitet, hvorimod skindstørrelsen har været påvirket negativt. Forsøg med en særlig skånsom forarbejdning af lupin og raps og afprøvning af dette i vækstperioden, gav reduceret skindlængde (Bjergegaard et al., 2002). Hestebønner anvendes med godt resultat til smågrise (Kristiansen & Svendsen, 2008). Hestebønner har et højt indhold af fibre og tanniner, især i skallerne, hvorfor det afskallede produkt er mest interessant til mink. Ved samtidig anvendelse af høje niveauer af flere vegetabiliske proteindråvarer i foderet, bør indholdet af de enkelte produkter måske reduceres, på grund af deres indhold af antinutritionelle stoffer. Majs gluten, hvedegluten og kartoffelprotein har været anvendt

til mink med godt resultat gennem mange år, og en afprøvning af en blanding af soyabønner, kartoffelprotein, majs gluten og hvedegluten med op til 7% i vækstperioden, havde ingen negative konsekvenser for skindlængde og kvalitet (Clausen & Hejlesen, 1999). Procesbehandlingen af de forskellige vegetabiliske råvarer, bliver dog jævnligt optimeret, hvorfor højere iblanding i fremtiden sandsynligvis er muligt.

De fleste forsøg med vegetabiliske proteinkilder er udført i vækstperioden. Et forsøg i den tidlige vækstfase fra dag 28 til dag 56 efter fødsel viste at 6,7% vegetabiliske råvarer (kartoffelprotein, majs gluten, alfaso) gav samme hvalpetilvækst som 3,7% vegetabiliske råvarer (kartoffelprotein, majs gluten, samt øget affedtet fjerkræ) (Clausen & Larsen, 2019). Formålet med dette forsøg var derfor at undersøge, hvorvidt en høj andel af vegetabiliske proteinråvarer (9,9 vs. 3,8%) bestående af kartoffelprotein, majs gluten, sojaprotein, ærteprotein og hvedegluten, kan anvendes til hunner og hvalpe i dieperioden.

Materiale og metoder

I forsøget indgik to hold á 130 brune hunner med kuld født i perioden 27. april til 2. maj. Fra 20. april blev kontrolholdet (KON) fodret med et kontrolfoder (Tabel 1), mens

forsøgsholdet blev tildelt et foder, hvor en stor del af de animalske proteinkilder var erstattet med vegetabiliske proteinkilder (VEG; Tabel 1). Andelen af fordøjeligt protein fra vegetabiliske råvarer var således 13,2% i KON mod 33,6% i VEG. De vegetabiliske råvarer, der blev anvendt, var kartoffelprotein, majs gluten, sojaprotein, ærteprotein og hvedegluten. Foderet blev jævnligt kontrolleret ved analyse af kemiske og bakteriologiske kvalitetsparametre. Hunnerne blev fodret på buret hele perioden, hvalpene blev fra dag 28 efter fødsel fodret på redekassen med så meget vand i foderet som muligt.

Anden års hunner blev vejet 1. nov., ung hunner blev vejet ved sortering 6. nov., alle hunner blev dernæst vejet 19. dec., 29. jan., 20. feb., samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, samt talt og vejet dag 28 og dag 42. Døde dyr blev indsamlet og obduceret. Sygdomme, flyttede hvalpe, bid samt anvendelse af kaninvandflasker blev noteret. Dag 42 blev foretaget delvis fravænnning af store kuld (Clausen & Larsen, 2015).

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med proceduren Probit.

TABEL 1 FODERSAMMENSÆTNING FRA 20. APRIL TIL DAG 42 FOR KONTROLHOLDET (KON) OG FØR- SØGSHOLDET (VEG) MED HØJ ANDEL VEGETABILISKE PROTEIN. PROCENT IBLANDING I FODERET.

HOLD	KON	VEG
Fiskeafskær	30	20
Industrifisk	39,0	24,2
Fiskeensilage	3	2
Affedt fjerkræ	8	6
Byg / hvede	6,14	5,42
Fiskemel	3	3
Hæmoglobinmel	3	3
Kartoffelprotein	2	2
Majsgluten	1,81	2
Alfa Soy		2
Ærteprotein		2
Hvedegluten		1,9
Soyaolie	2,59	3,35
Svinefedt	1,3	1,68
Vit.-bl. α	0,2	0,2
Vand		21,2
Plantal		
Tørstof %	36	36
Energiindhold g/100 kcal	166	166
Energifordeling P:F:K	45:45,2:9,8	45:45,2:9,8
Analysetal (udfodret)		
Tørstof %	34,1	35,6
Energiindhold g/100 kcal	153	159
Energifordeling P:F:K	44,5:45,5:10	46:44,5:9,5

DER BLEV FRA STARTEN AF MAJ TILSAT SALT OP TIL ET INDHOLD PÅ 0,42 G / 100 KCAL; MIND-STEKRAV TIL AMINOSYRER SAMT VITAMIN- OG MINERALBLANDINGENS SAMMENSÆTNING FØLGER ANBEFALINGER TIL FODERCENTRALER FOR 2018 (TEAMFODER, 2017); α VITAMIN OG MINERAL INDHOLD PR KG PREMIKS: 1.000.000 IE A-VITAMIN; 350.000 IE D3-VITAMIN; 30.000 IE E-VITAMIN; 12.500 MG B1-VITAMIN; 4.000 MG B2-VITAMIN; 4.000 MG B6-VITAMIN; 4.000 MG D-PANTOTHENSYRE; 8.000 MG NIACIN; 60.000 MG COLINEXTRA; 500 MG FOLINSYRE; 100 MG BIOTIN; 25 MG B12-VITAMIN; 5.000 MG ZN; 7.795 MG MN; 500 MG CU;

Resultater og diskussion

Analysen af foderet viste god overensstemmelse mellem plantallene og de analyserede værdier (Tabel 1). Anbefalingerne til aminosyreindhold (Teamfoder, 2017) var overholdt i KON, mens i VEG var met og tyr lige i underkanten. Hunnerne blev fodret med fodercentralfoder indtil 20.

april, og der var ikke forskel i vinterperiodens vægte samt i huld ved fødsel, denne var 3,0 for begge hold (huld vurderet ud fra metode udviklet af Hynes et al., 2004). Antal hvalpe ved fødsel samt hvalpetabet gennem dieperioden (Tabel 2) var ikke forskellig.

TABEL 2 ANTAL LEVENDE OG DØDE HVALPE PR KULD VED FØDSEL, SAMT HVALPETABET GENNEM DIEPERIODEN (FØDSEL – 42 DAGE)

HOLD	N	LEVENDE		DØDE		HVALPETAB: FØDSEL– DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	7,91	2,11	0,66	1,11	1,04	1,56
VEG	135	7,79	2,04	0,47	0,80	1,04	2,08
		NS		NS		NS	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE.

Der var ikke forskel i hvalpeantallet pr kuld gennem dieperioden. Dag 42 var der 6,87 og 6,75 hvalpe pr kuld i hhv. KON og VEG.

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden var ikke forskellig mellem holdene (Tabel 3).

TABEL 3 HUNNERNES VÆGT DAG 28, DAG 42 SAMT VÆGTTAB FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	N	DAG 28		DAG 42		VÆGTTAB	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	1706	173	1522	184	183	104
VEG	135	1704	194	1505	201	201	105
		NS		NS		NS	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER, AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE.

Der var ingen forskel i hvalpenes vægt mellem hold dag 28. Derimod var der signifikant forskel dag 42 således, at hvalpene i VEG holdet havde den laveste tilvækst i dieperioden og dermed var mindst dag 42 (Tabel 4 og 5). Den lavere tilvækst hos VEG hvalpene kan være forårsaget af en

reduceret foderoptagelse pga. smag og konsistens og/eller en ringe udnyttelse af de vegetabilske proteinråvarer hos hvalpene. Kravene til aminosyrer var opfyldt i begge hold, på nær et lille underindhold af met og tyr.

TABEL 4 HVALPENES VÆGTE DAG 28 OG DAG 42, GRAM

HOLD	N	HANHVALPE DAG 28		HUNHVALPE DAG 28		HANHVALPE DAG 42		HUNHVALPE DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
KON	131	188	37	175	33	349 a	84	316 a	73
VEG	135	193	34	174	29	325 b	68	293 b	60
		NS		NS		0,008		0,006	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEML HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

TABEL 5 HVALPE TILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HOLD	N	HANHVALPE		HUNHVALPE	
		GENN	STD	GENN	STD
KON	131	161 a	63	141 a	53
VEG	135	130 b	52	117 b	50
		< 0,0001		0,0002	

N ER ANTAL, GENN ER GENNEMSNIT OG STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER SIGNIFIKANT FORSKEL MELLEM HOLDENE; FORSKELLIGE BOGSTAVER I EN KOLONNE ANGIVER AT DER ER SIGNIFIKANT FORSKEL

Der døde 1,8 og 3,3% af hunnerne i perioden fra fødsel til dag 42 i hhv. KON og VEG, 3,1 og 5,2% af kuldene fik en behandling i løbet af dieperioden, 7,6 og 6,7% af kuldene fik kaninflasker sat op, der var ikke forskel mellem holdene.

I forsøget med 6,7% vegetabiliske råvarer mod 3,7% (Clausen & Larsen, 2019), hvor alfasoy erstattede en del af det affedtede fjerkræ, blev der ikke set forskel i tilvæksten. I det aktuelle forsøg med 3,8 vs. 9,9% vegetabiliske råvarer blev der observeret lavere tilvækst ved den høje iblanding. Iblandingen af vegetabiliske råvarer var højere end i forsøget af Clausen & Larsen (2019), og desuden erstattede de vegetabiliske råvarer letfordøjelige fiskebiprodukter. Ud over mængden af vegetabiliske råvarer er typen af disse væsentlig, smag og konsistens og evt. udnyttelsesgrad af foderet påvirkes og kan være en væsentlig faktor for dyrenes trivsel.

Konklusion

Fodring med 9,9% vegetabiliske råvarer i dieperioden frem for 3,8% gav reduceret hvalpetilvækst fra dag 28 til dag 42 efter fødsel. Der var ikke forskel i hunnernes vægt og i hvalpeoverlevelse i perioden.

Referencer

Bjergegaard, C., Hillemann, G., and Sørensen, H., 1995. Ærter i foder til mink. Faglig Årsberetning for Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed. 1993/1994, 39-48.

Bjergegaard, C., Clausen, T.N., Hejlesen, C., Mortensen, K. & H. Sørensen, 2002. Lupin og raps produkter til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2001, 97-104. Pelsdyrervets Forsøgs og Rådgivningsvirksomhed, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. AlphaSoy Premium og Maltodextrin til 4 til 8 uger gamle minkhvalpe. Faglig Årsberetning 2018, 51-54. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T., Hejlesen, C., 2002. Ærter og soyabønner til mink i vækstperioden 2000. Faglig Årsberetning, Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2001.

Clausen, T.N., and Hejlesen, C., 2000a. Afprøvning af stigende mængde toastede soyabønner til minkhvalpe i vækstperioden 1998. Faglig Årsberetning, Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 1999, 101-103.

Clausen, T.N., and Hejlesen, C., 2000b. Anvendelse af to niveauer af toastede soyabønner ved reduktion af fiskeråvarer i foderet til minkhvalpe i vækstperioden 1998. Faglig Årsberetning, Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 1999, 105-110.

Clausen, T.N. & C. Hejlesen, 1999. Anvendelse af reducerede fiskemængder i foderet til minkhvalpe i vækstperioden. Faglig Årsberetning 1998 (2. udg.), 57-65 (39-42). Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed A/S, Holstebro, Danmark.

Hejlesen, C., and Clausen, T.N., 2001. Toastede soyabønner til minkhvalpe i vækstperioden. Faglig Årsberetning, Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2000, 73-76.

Hillemann, G., 1985. Forsøg med rapsskrå i dieperioden. Faglig Årsberetning for Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 1984, 31-33

Hillemann, G., Jensen, S.K., and Sørensen, H., 1989. "Novo rapsmel" som proteinkilde til minkfoder. Faglig Årsberetning for Pelsdyrervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 1988, 156-162.

Hillemann, G. and Lyngs, B., 1991. Varmebehandlede ærter og varmebehandlet rapsfrø til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning for Pelsdyrervets Forsøgs og Rådgivningsvirksomhed 1990, 124-134.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, Sep-tember 15 – 18. Scientifur, 28, 3, 79 - 86.

Kristiansen, I.R. & Svendsen, S.Z., 2008. Danskdyrkede proteinfodermidler til økologiske smågrise – Dosis-respons forsøg med hestebønner, Speciale KU 2008, 107 pp.

SAS Institute Inc., 1996. SAS © System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp

Team foder, 2017: Anbefaling til indhold af næringsstoffer i dansk minkfoder 2018. Intern Rapport, København Fur Forskning 2017 ✕

FORSØG MED INAKTIVERING AF ALEUTIAN MINK DISEASE VIRUS (AMDV) I GYLLE VED HØJ PH ELLER VARME

Af Lise Kirstine Kvisgaard, Mette Sif Hansen, Mariann Chriél, Lars Erik Larsen & Charlotte Kristiane Hjulsgager
Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet 204, 2800 Kongens Lyngby, Danmark

Sammendrag

I Danmark er det lovpligtigt at hygiejniseres husdyrgødning før udbringning, hvis mere end tre mink på en farm er testet Aleutian mink disease virus (AMDV) antistofpositiv. Hygiejnisering foregår ved tilsætning af base til pH 12 hvorefter gødningen kan bringes ud på marker eller transporteres til biogasanlæg, hvor det varmebehandles. I dette studie blev det undersøgt eksperimentelt, om AMDV kan inaktiveres ved hhv. pH 12 og 70 °C.

Fire mink blev inokuleret med gylle indeholdende pH-inaktiveret AMDV. Heraf var tre mink viruspositive i blodet efter 44 dage (DPI 44). En mink forblev AMDV negativ. Fire andre mink blev inokuleret med gylle, der indeholdte varmeinaktiveret AMDV. Heraf måtte tre mink aflives før tid pga. sår. Den sidste mink forblev negativ for AMDV. Resultaterne indikerer, at AMDV ikke blev inaktiveret i dette forsøgs-set-up ved at øge pH i gyllen til 12. Dog blev minkene senere AMD viruspositive (DPI 28 og 44) end kontroldyr, der fik ikke-inaktiveret virus (DPI 13), som tegn på at den høje pH-værdi har en inaktiverende effekt. Da der kun var én mink i den varmeinaktiverede gruppe, der overlevede hele forsøgsperioden, er det ikke muligt at konkludere om varmebehandling ved 70 °C er tilstrækkelig til at inaktivere AMDV i gylle.

Kvisgaard, L.K., Hansen, M.S., Chriél, M., Larsen, L.E., Hjulsgager, C.K. 2019. Forsøg med inaktivering af Aleutian mink disease virus (AMDV) i gylle ved høj pH og varme. Faglig Årsberetning 2018, 90-94. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, pH, inaktivering, varmebehandling, gylle

Abstract

Sanitation of manure from mink farms is specified by Danish legislation, when more than three mink on a farm is tested antibody positive for Aleutian mink disease virus (AMDV). The sanitation is performed by increasing pH of the manure to pH 12. After sanitation, the manure can be used as fertilizer or transported to a biogas plant, where it will be heat-treated. The aim of this study was to test experimentally whether increase of pH to 12 or heat-treat-

ment at 70 °C was sufficient to inactivate AMDV in manure and hence prevent spread of AMDV from infected herds.

Four mink were inoculated with pH-inactivated AMDV in manure. One remained ADMV negative, but three mink became viremic. Another four mink were inoculated with heat-treated AMDV in manure. Of these, three mink were euthanized prematurely due to wounds. The surviving mink remained negative for AMDV. Under the conditions of this study, AMDV was not inactivated by elevating pH. However, the development of viremia was delayed compared to control mink inoculated with non-inactivated AMDV-manure, suggesting the elevating pH has an inactivating effect. Since only one mink inoculated with heat inactivated AMDV-manure survived, no conclusion regarding heat-treatment at 70 °C can be drawn.

Kvisgaard, L.K., Hansen, M.S., Chriél, M., Larsen, L.E., Hjulsgager, C.K. 2019. Experimental inactivation of Aleutian mink disease virus (AMDV) in mink manure by increased pH and heat. Annual Report 2018, 90-94. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, pH, inactivation, heat-treatment, manure

Indledning

Aleutian mink disease (AMD) hos voksne mink (Neovision vision) er karakteriseret ved blandt andet plasmacytose, hypergammaglobulinaemia og akkumulering af immun-komplekser (Bloom et al., 1994). Hos minkhvalpe viser AMD sig ved akut og hurtig udvikling af interstitiel lungebetændelse, som ofte resulterer i en høj dødelighed (Alexandersen, 1986). AMD er forårsaget af infektion med Aleutian Mink Disease Virus (AMDV), Carnivore amdo-parvovirus 1 i Parvoviridae familien i slægten Amdoparvovirus ("ICTV 9th Report (2011)," 2011; Cotmore et al., 2014). AMDV er en lille, ikke-kappet virus, med et lineært enkelt-strengt DNA genom på omkring 4,8 kilobaser (Bloom et al., 1980, 1988). AMDV bliver udskilt i blod, spyt, urin og fæces og det er påvist eksperimentelt, at AMDV i fæces kan inficere mink gennem den orale rute (Gorham et al., 1964).

Virussen er yderst modstandsdygtig i miljøet og kan overleve høje temperaturer og kemiske behandlinger (Eklund et al., 1968; Porter et al., 1977; Hussain et al., 2014). Denne høje modstandsdygtighed gør det meget svært at eliminere virus fra kontaminerede overflader, og der er derfor en risiko for, at virus kan spredes både indenfor og mellem minkfarme (Prieto et al., 2014, 2017).

AMDV kan også inficere vildtlevende mustelider som for eksempel væsler, fritter, oddere og grævling (Alexander et al., 1985; Farid, 2013; Knuuttila et al., 2015), hvilket gør begrænsning af spredningen af AMDV fra positive farme yderst nødvendig.

AMD har siden 1999 været en anmeldepligtig sygdom i Danmark, og kontrol af sygdommen har været understøttet ved lov siden da (Anonymous, 1999, 2016). Testes mere end 3 dyr AMDV antistof positive på en minkfarm, er der pligt til hygiejniserings af husdyrgødning før udbringning (Anonymous, 2016). Hygiejniserings skal foregå ved tilsætning af base (f.eks. hydratkalk, kaustisk soda) til pH 12, men det er ikke specificeret hvor længe perioden for pH 12 skal opretholdes. Efter endt hygiejniserings, kan gødningen bringes ud på marker eller transporteres til biogasanlæg. Gylle, som bliver sendt til biogasanlæg, vil blive findelt til mindre partikelstørrelser (max 12 mm) og herefter opvarmet til minimum 70°C i mindst 60 minutter (Anonymous, 2018).

I dette studie blev det eksperimentelt undersøgt om den gældende praksis vedrørende inaktivering ved pH 12 eller varmebehandling på biogasanlæg er tilstrækkelig til at inaktivere AMDV i gylle.

Materialer og metoder

Fremstilling og inaktivering af AMDV inokulum

Et 10% homogenat blev fremstillet fra AMDV positive milt (AMDV/mink/Denmark/52-1/2016) i PBS med 4% (v/v) penicillin-streptomycin. Vævet blev homogeniseret i en Tissuelyser II i 2 x 3 min ved 30 Hz med en stålkugle. Homogenatet blev centrifugeret ved rumtemperatur i 3 min ved 12.000xg, hvorefter supernatanten blev isoleret. Supernatanten blev neutraliseret til pH=7,0 med 1M NaOH og sterilfiltreret gennem et 0,45 µm filter (Millipore). En aliquot blev taget fra og analyseret for AMDV ved hjælp af real-time PCR og resten af inokulum blev opbevaret ved -80°C indtil brug.

AMDV-holdig minkgylle blev fremstillet ud fra 270 g minkgylle, indsamlet fra en AMDV negativ farm, tilsat 30 ml AMDV inokulum (10% w/v) og blandet grundigt ved magnetomrøring i 30 min ved rumtemperatur. Denne portion af AMDV minkgylle blev brugt til at lave 3 forskellige inokulum som beskrevet nedenfor:

- Et ikke-inaktiveret AMDV inokulum blev isoleret fra 40 g AMDV minkgylle efter centrifugering ved 3000xg, i 10 min, ved 4°C.
- Et varmeinaktiveret AMDV inokulum blev fremstillet fra 60 g AMDV minkgylle som blev inkuberet i 1 time ved 70°C i et varmeskab under konstant magnetomrøring. Efter inkuberingen var det meste af væsken i gyllen fordampet, svarende til 13 g væske, og derfor blev der tilsat 13 g Millipore vand for at godtgøre væsketabet. For at isolere supernatanten blev præparationen centrifugeret ved 3000xg, 10 min, 4°C.

- Et pH-inaktiveret AMDV inokulum blev fremstillet fra 60 g AMDV minkgylle. For at opnå en slut pH-værdi på 12, blev gyllen under konstant magnetomrøring tilsat 3,5 g hydratkalk [Ca(OH)₂] opløst i 37,5 ml Millipore vand. Gyllen blev inkuberet under konstant magnetomrøring i 93 timer, 4°C. Herefter blev gyllen centrifugeret ved 3000xg, 10 min, 4°C og supernatanten isoleret.

Penicillin-streptomycin blev tilsat de 3 forskellige inokulum til en slut koncentration på 10% (v/v) og pH-værdien blev justeret til 7,0 med 5M saltsyre (HCl).

Til sidst blev alle 3 inokulum sterilfiltreret gennem et 0,45 µm filter. En aliquot fra hver inokulum blev udtaget til undersøgelse for AMDV ved real-time PCR, mens resten blev opbevaret ved -80°C til senere brug.

Forsøgsdesign

Der blev indkøbt 12 safir minkhanner (Neovision vision) ultimo marts fra en AMDV negativ minkfarm. Ved ankomst til dyreforsøgsheden på Veterinærinstituttet, Lindholm blev alle dyrenes sundhed undersøgt, hvorefter de blev opstaldet indendørs i 4 separate stalde. Hver mink fik sit eget bur med tilhørende redekasse, rør og bolde. Minkene blev fodret med standard minkfoder fra en kommerciel minkfoderproducent, og de havde ubegrænset adgang til vand. Minkene havde 5 dage til at akklimatisere sig, før de blev inokuleret. Hvis minkene viste kliniske tegn på sygdom før eller under eksperimentet blev de aflivet. Forsøget beskrevet her er godkendt af dyreforsøgstilysnet (tilladelsesnummer 2016-15-0201-01106).

Minkene blev inddelt i 4 grupper: Gruppe 1: AMDV pH inaktiveret (n=4), Gruppe 2: AMDV varmeinaktiveret (n=4), Gruppe 3: AMDV kontrol minkgylle (n=2) og Gruppe 4: AMDV inokulum uden gylle (n=2). På dag 0 post inokulation (DPI 0) blev dyrene bedøvet ved intramuskulær injektion af ketamin (10-15 mg/kg) og xylazin (0.5-1 mg/kg), hvorefter de blev injiceret i bughulen med 1ml inokulum. Minkene blev tilset dagligt og kliniske observationer blev bedømt ud fra fire kategorier: minkenes almene befindende, respiration, appetit og fæces, med et scoringssystem som tidligere er beskrevet af Jensen et al. (2016). Minkene fik taget blodprøver fra en vene i forbenet (Vena cephalica) og blev vejlet på DPI -1, 13, 28 og 44. På DPI 44 blev dyrene aflivet. Vævsprøver fra milt blev udtaget til undersøgelse for AMDV ved real-time PCR.

Testmetoder

Total DNA blev ekstraheret manuelt fra inokulum, serum og milt ved brug af QIAamp DNA Mini Kit. Total DNA blev elueret i 200 µl AE buffer og opbevaret ved -20°C indtil brug. Et AMDV-G cellekultur isolat og nukleasefrit destileret vand blev brugt som henholdsvis positiv og negativ oprensningsskontrol.

Det oprensede DNA blev testet for AMDV med et in-house (Veterinærinstituttet) real-time PCR TaqMan assay. Alle prøver blev testet i duplikater.

Blod eller serum påført blodkort (dried blood spot; DBS) blev undersøgt for AMDV antistoffer med antistof ELISA (ELISA Danad) (Dam-Tuxen et al., 2014) på København Fur.

Resultater

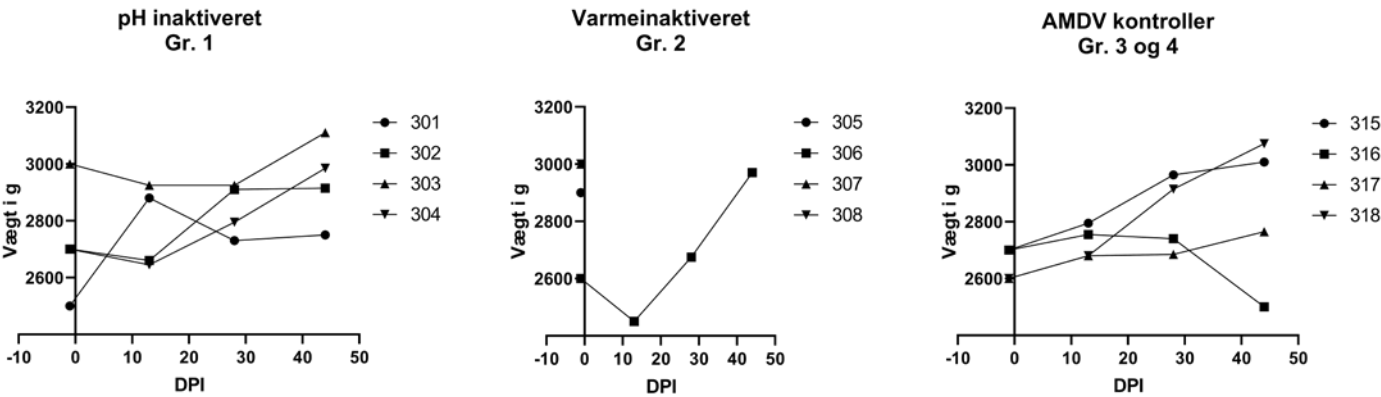
Inokulum

Alle fire inokulum blev testet for AMDV ved real-time PCR inden forsøgets start. Som forventet var alle AMDV positive. Det pH inaktiverede inokulum var mindre positiv ($1,3 \times 10^{11}$ kopier/ml) end de 3 andre inokulum (varmeinaktiveret: $4,9 \times 10^{13}$ kopier/ml; AMDV gylle: $7,1 \times 10^{13}$ kopier/ml, AMDV positiv kontrol: $7,2 \times 10^{13}$ kopier/ml) hvilket stemmer overens med at denne prøve blev yderligere fortyndet ved tilsætning af hydratkalkopløsningen til at øge pH-værdien.

Kliniske observationer

Efter inokulering af minkene blev de tilset dagligt og kliniske observationer noteret. Minkene i den pH inaktiverede gruppe (gr. 1) viste under hele forsøgsperioden ingen kliniske tegn på AMDV infektion og alle fire mink havde

en slutvægt som var højere end startvægten (figur 1). Tre mink i den varmeinaktiverede gruppe (gr. 2) havde problemer med inficerede sår på poter og snude, hvilket for nogle af dyrene også havde indflydelse på deres trivsel. Disse mink blev aflivet af dyreetiske grunde på henholdsvis DPI 4, 6 og 11. Den tilbageværende mink i denne gruppe havde god trivsel og viste ingen kliniske symptomer på AMDV infektion. Dens vægtskurve steg under hele forsøgsperioden (figur 1). Vægtudviklingen for de to kontrol grupper, AMDV minkgylle (gr. 3) og AMDV kontrol (gr. 4) er vist i figur 1. Kun mink 316 fra AMDV minkgylle gruppen havde tabt sig i forhold til startvægten ved forsøgets afslutning. Denne mink var observeret at spise langsomt i begyndelsen af forsøget. Minkene i AMDV kontrol gruppen viste ingen tegn på sygdom, dog var begge mink i denne gruppe let nedstemte på DPI 39.



FIGUR 1 KURVERNE VISER MINKENES VÆGTUDVIKLING UNDER FØRSØGET. MINKENE BLEV VEJET PÅ DPI -1, 13, 28 OG 44 (VED AFLIVNING). VÆGTSKURVERNE FOR GRUPPE 3 OG 4 ER HER VIST SAMMEN. MINK 315 OG 316 HØRER TIL AMDV MINKGYLLE GRUPPE (GR. 3) OG MINK 317 OG 318 HØRER TIL AMDV KONTROL GRUPPEN (GR. 4)

Undersøgelse af blodprøver

Der blev udtaget blodprøver fra alle mink på DPI -1, 13, 28 og 44. For de tre mink i gruppe 2, der blev aflivet før tid, blev der udtaget aflivningsblod på henholdsvis DPI 4,

6 og 11. Tidspunkt og antal af AMDV positive mink fundet ved real-time PCR og ELISA er vist i tabel 1. Alle mink var negative for AMDV ved real-time PCR og for AMDV antistoffer ved ELISA på DPI -1.

TABEL 1 AMDV DNA PÅVIST VED REAL-TIME PCR OG AMDV ANTISTOFFER I SERUM PÅVIST VED ELISA

ANTAL AF POSITIVE MINK/ANTAL AF INOKULEREDE MINK								
DPI	PH INAKTIVERING (GR. 1)		VARMEINAKTIVERING (GR. 2)		AMDV MINKGYLLE (GR. 3)		AMDV KONTROL (GR. 4)	
	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA
-1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/2	0/2	0/2	0/2
>11a	NA	NA	0/3	0/3	NA	NA	NA	NA
13	0/4	0/4	0/1	0/1	2/2	0/2	2/2	0/2
28	2/4	1/4	0/1	0/1	2/2	2/2	2/2	2/2
44	3/4	2/4	0/1	0/1	2/2	2/2	2/2	2/2

a PÅ DAG 4, 6 OG 11 EFTER INOKULERING BLEV TRE MINK FRA DEN AMDV VARMEINAKTIVEREDE GRUPPE AFLIVET PÅ GRUND AF INFICEREDE SÅR PÅ POTER OG SNUDE. NA: IKKE ANALYSERET

I den pH inaktiverede gruppe serokonverterede én mink på DPI 28, mens to mink var viræmiske denne dag. Ved aflivning på DPI 44 havde endnu en mink serokonverteret, mens tre mink var viræmiske. Én mink forblev negativ for både AMD virus og antistoffer i hele forsøgsperioden.

De tre mink i den varmeinaktiverede gruppe, der blev aflivet før afslutning af forsøget, havde ikke serokonverteret ved aflivning, og der blev heller ikke fundet AMDV ved real-time PCR hos disse mink. Den ene mink fra denne gruppe, som overlevede hele forsøgsperioden, forblev negativ for AMDV og AMDV antistoffer i henholdsvis real-time PCR og ELISA.

De to mink inokuleret med AMDV minkgylle (gr. 3) var begge viræmiske på DPI 13, mens de endnu ikke havde serokonverteret. På DPI 28 var begge mink både viræmiske og

havde serokonverteret og forblev AMDV positive i resten af forsøgsperioden.

De to AMDV kontrol mink (gr. 4) var begge viræmiske på DPI 13, men havde ikke serokonverteret. På DPI 28 var begge mink viræmiske og havde også serokonverteret og de forblev AMDV positive i resten af forsøgsperioden.

Undersøgelse af milt for AMDV

Ved obduktionen af minkene blev vævsprøver fra miltten udtaget. Den blev undersøgt for AMDV ved real-time PCR. Resultaterne af undersøgelsen af miltene for AMDV stemte overens med real-time PCR resultaterne fra serum. De mink som var viræmiske ved aflivning, havde også AMDV positiv milt (Tabel 2).

TABEL 2 AMDV DNA I MILTE PÅVIST VED REAL-TIME PCR

ANTAL AF POSITIVE MINK I MILT/ANTAL AF INOKULEREDE MINK				
DPI (AFLIVNING)	PH INAKTIVERING (GR.1)	VARMEINAKTIVERING (GR. 2)	AMDV MINKGYLLE (GR. 3)	AMDV KONTROL (GR. 4)
>11a	NA	0/3	NA	NA
44	3/4	0/1	2/2	2/2

* PÅ DAG 4, 6 OG 11 EFTER INOKULERING BLEV TRE MINK FRA DEN AMDV VARMEINAKTIVEREDE GRUPPE AFLIVET PÅ GRUND AF INFICEREDE SÅR PÅ POTER OG SNUDE NA: IKKE ANALYSERET

Patologi

Ved obduktion fandtes alle mink at være i normal foderstand eller velnærede. I den pH inaktiverede gruppe (gr. 1) havde én mink lidt forstørret milt, lever og rektal lymfeknude. To andre mink fra denne gruppe havde let fortykkelse af tyktarmsvæggen, hvor den ene af disse desuden havde misfarvede/melerede lunger. I den varmeinaktiverede gruppe havde de to mink aflivet på henholdsvis DPI 4 og 6 forstørret milt. Minken aflivet DPI 11 havde ingen forandringer, mens den ene mink som overlevede hele forsøgsperioden havde misfarvede/melerede lunger med lidt øget tekstur. I AMDV minkgylle gruppen (gr. 3) havde en mink forstørret milt. I AMDV kontrol gruppen (gr. 4) havde en mink forstørret milt og lymfeknuder.

Diskussion

Resultaterne fra forsøget viste ikke entydigt, at det var muligt at inaktivere AMDV i minkgylle ved at øge pH til 12 eller ved 70 °C varmebehandling i en time. For gruppen af mink inokuleret med pH inaktiveret AMDV gylle blev tre ud af fire mink viræmiske på DPI 28 (n=2) og 44 (n=1). Sammenlignes disse resultater med de to kontrol grupper (AMDV gylle og AMDV kontrol) hvor alle minkene (n=2 og n=2) blev testet viræmiske på DPI 13, ser det ud til at der går længere tid før der udvikles viræmi hos den pH inaktiverede gruppe. Tidligere studier har vist at udviklingen af AMD i eksperimentelle forsøg er dosisafhængig (Porter et al., 1969; Jensen et al., 2016) og det kan ikke udelukkes, at det kan være en forklaring på den senere udvikling af viræmi hos den pH inaktiverede gruppe. Under indstilling af AMDV gylle til pH 12 blev inokulum fortyndet med en hy-

dratkalkopløsning, og minkene i denne gruppe, blev derfor inokuleret med en mindre mængde virus ($1,3 \times 10^{11}$ kopier/ml) end de to kontrol grupper (AMDV gylle: $7,1 \times 10^{13}$ kopier/ml, AMDV positiv kontrol: $7,2 \times 10^{13}$ kopier/ml). Under forberedelsen af inokulum blev pH indstillet til 12 og gyllen blev efterladt under omrøring på køl i 93 timer. Efter de 93 timer blev pH målt igen, og da var pH faldet til pH 8,9. Det er uvist hvor længe AMDV gyllens pH-værdi var 12 i dette forsøg, men et senere forsøg viste at pH faldt til 10,5 efter 24 timers inkubering og til 8,5 efter 72 timer. Disse observationer viser, at pH falder forholdsvis hurtigt og der bør derfor måles pH løbende og tilføres base for at fastholde pH-værdien på 12.

For den varmeinaktiverede gruppe blev tre ud af fire mink aflivet på henholdsvis DPI 4, 6 og 11. Den ene overlevende mink i denne gruppe forblev negativ for AMDV og AMDV antistoffer. På grund af frafald af dyr kan det ikke konkluderes at varmebehandling af AMDV gylle ved 70°C i 1 time er tilstrækkeligt til at inaktivere AMDV.

Konklusion

Det var ikke muligt at drage endelige konklusioner fra dette forsøg på grund af antallet af dyr. Forsøget bør gentages med monitorering og opretholdelse af pH-værdi 12 i hele behandlingsperioden.

Anderkendelser

Undersøgelserne blev finansieret af Pelsdyragiftsfonden og DTU Veterinærinstituttet. Tak til dyrlæge Louise Lohse og staldpersonalet på Lindholm for at passe dyrene un-

der forsøget. Tak til laborant Nina Dam Grønnegaard for udførelse af PCR analyserne og til København Fur for udførelse af antistofundersøgelserne. Tak til Tina Struve, København Fur, for AMDV positiv miltprøve til fremstilling af inokulum.

Referencer

- Alexandersen, S., 1986. Acute interstitial pneumonia in mink kits: experimental reproduction of the disease. *Vet. Pathol.* 23, 579–588. doi:10.1177/030098588602300506
- Alexandersen, S., Uttenthal, A., Hansen, M., Aasted, B., 1985. Experimental Transmission of Aleutian Disease virus (ADV) to Different Animal Species. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Ser. B Microbiol.* 93 B, 195–200. doi:10.1111/j.1699-0463.1985.tb02876.x
- Anonymous, 2018. Vejledning om organisk gødningsstoffer og jordforbedringsmidler med animalsk indhold: VEJ nr 9531 af 29/06/2018 [WWW Document]. URL <https://www.retsinformation.dk/forms/R0710.aspx?id=202368> [accessed 11.15.18].
- Anonymous, 2016. Bekendtgørelse om plasmacytose hos pelsdyr: BEK nr 1433 af 01/12/2016 [WWW Document]. URL <https://www.retsinformation.dk/forms/R0710.aspx?id=185270> [accessed 9.24.18].
- Anonymous, 1999. Bekendtgørelse om plamacytose hos mink, ilder og finnraccoon: BEK nr 312 af 19/05-1999 [WWW Document]. URL <https://www.retsinformation.dk/forms/R0710.aspx?id=6660> [accessed 10.18.18].
- Bloom, M.E., Alexandersen, S., Perryman, S., Lechner, D., Wolfinbarger, J.B., 1988. Nucleotide sequence and genomic organization of Aleutian mink disease parvovirus (ADV): sequence comparisons between a nonpathogenic and a pathogenic strain of ADV. *J. Virol.* 62, 2903–15. doi:10.1007/s11262-012-0733-x
- Bloom, M.E., Kanno, H., Mori, S., Wolfinbarger, J.B., 1994. Aleutian Mink disease: Puzzles and Paradigms. *Infect. Agents Dis.* 279–301.
- Bloom, M.E., Race, R.E., Wolfinbarger, J.B., 1980. Characterization of Aleutian disease virus as a parvovirus. *J. Virol.* 35, 836–43.
- Cotmore, S.F., Agbandje-McKenna, M., Chiorini, J. a, Mukha, D. V, Pintel, D.J., Qiu, J., Soderlund-Venermo, M., Tattersall, P., Tijssen, P., Gatherer, D., Davison, A.J., 2014. The family Parvoviridae. *Arch. Virol.* 159, 1239–47. doi:10.1007/s00705-013-1914-1
- Dam-Tuxen, R., Dahl, J., Jensen, T.H., Dam-Tuxen, T., Struve, T., Bruun, L., 2014. Diagnosing Aleutian mink disease infection by a new fully automated ELISA or by counter current immunoelectrophoresis: A comparison of sensitivity and specificity. *J. Virol. Methods* 199, 53–60. doi:10.1016/j.jviromet.2014.01.011
- Eklund, C., Hadlow, W., Kennedy, R., Boyle, C., Jackson, T., 1968. Aleutian Disease of Mink: Properties of the Etiologic Agent and the Host Responses. *J. Infect. Dis.* 118, 510–526.
- Farid, A.H., 2013. Aleutian mink disease virus in furbearing mammals in Nova Scotia, Canada. *Acta Vet. Scand.* 55, 10. doi:10.1186/1751-0147-55-10
- Gorham, J., Leader, R., Henson, J., 1964. The Experimental Transmission of a Virus Causing Hypergammaglobulinemia in Mink : Sources and Modes of Infection. *J. Infect. Dis.* 114, 341–345.
- Hussain, I., Price, G.W., Farid, A.H., 2014. Inactivation of aleutian mink disease virus through high temperature exposure in vitro and under field-based composting conditions. *Vet. Microbiol.* 173, 50–58. doi:10.1016/j.vetmic.2014.07.014
- ICTV 9th Report (2011) [WWW Document], 2011. URL https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/ssdna-viruses-2011/w/ssdna_viruses/151/parvoviridae [accessed 9.18.18].
- Jensen, T.H., Chriél, M., Hansen, M.S., 2016. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection. *Acta Vet. Scand.* 58, 18–20. doi:10.1186/s13028-016-0214-7
- Knuuttila, A., Aaltonen, K., Virtala, A.M.K., Henttonen, H., Isomursu, M., Leimann, A., Maran, T., Saarma, U., Timonen, P., Vapalahti, O., Sironen, T., 2015. Aleutian mink disease virus in free-ranging mustelids in Finland – A cross-sectional epidemiological and phylogenetic study. *J. Gen. Virol.* 96, 1423–1435. doi:10.1099/vir.0.000081
- Porter, D.D., Larsen, A.E., Cox, N.A., Porter, H.G., Suffin, S.C., 1977. Isolation of aleutian disease virus of mink in cell culture. *Intervirology* 8, 129–144. doi:10.1159/000148888
- Porter, D.D., Larsen, A.E., Porter, H.G., 1969. THE PATHOGENESIS OF ALEUTIAN DISEASE OF MINK. I. IN VIVO VIRAL REPLICATION AND THE HOST ANTIBODY RESPONSE TO VmAL ANTIGEN *, \$ (From the Department of Virology and Epidemiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77025 ; Department of Microbi. *J. Exp. Med.* 130, 575–593.
- Prieto, A., Díaz-Cao, J.M., Fernández-Antonio, R., Panadero, R., Díaz, P., López, C., Morrondo, P., Díez-Baños, P., Fernández, G., 2014. Application of real-time PCR to detect Aleutian Mink Disease Virus on environmental farm sources. *Vet. Microbiol.* 173, 355–359. doi:10.1016/j.vetmic.2014.07.024
- Prieto, A., Fernández-Antonio, R., Díaz-Cao, J.M., López, G., Díaz, P., Alonso, J.M., Morrondo, P., Fernández, G., 2017. Distribution of Aleutian mink disease virus contamination in the environment of infected mink farms. *Vet. Microbiol.* 204, 59–63. doi:10.1016/j.vetmic.2017.04.013 ✕



EKSPERIMENTEL SMITTE AF MINK MED PLASMACYTOSEVIRUS I FODER

Af Charlotte Kristiane Hjulsager¹, Christina Marie Lazov², Mariann Chriél¹, Lise Kirstine Kvisgaard¹, Lars Erik Larsen¹, Mette Sif Hansen¹.

¹ DTU Veterinærinstituttet, Kemitorvet B202, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark.

² DTU Veterinærinstituttet, Lindholm, 4771 Kalvehave, Danmark.

Sammendrag

Foder mistænkes ofte som smittekilde til sygdomsudbrud forårsaget af forskellige patogener i mink, herunder også som årsag til udbrud af plasmacytose. I dette studie undersøgte vi, om inficeret foder kunne smitte mink med plasmacytosevirus (Aleutian mink disease virus, AMDV) under eksperimentelle forhold. Der blev udført forsøg med raske safirmink, som blev fodret med overskuds-foder fra mink, der var smittet med AMDV Sæbyvirus. Der kunne påvises virus i foderet, men smitte blev ikke overført. Der blev endvidere udført forsøg, hvor raske safirmink blev fodret med foder iblandet forskellige doser af Holstebro- eller Sæbyvirus, uden at smitteoverførsel kunne påvises. Endelig fodrede vi safirmink, som forinden var immunsupprimeret ved prednisolon behandling, med en høj dosis af AMDV Sæbyvirus. Smitte af de immunsupprimerede dyr kunne i dette forsøg påvises for tre ud af seks mink. De resterende tre mink udgik af forsøget, inden smitte kunne påvises. Resultaterne fra disse studier viste, at svækkede dyr er modtagelige for oral smitte med AMDV via foder. Sekundær smittespredning inden for farmen kan derefter formodes at forløbe horisontalt, når først et eller flere dyr er smittet via foderet.

Hjulsager, C.K., Lazov, C.M., Chriél, M., Kvisgaard, L.K., Larsen, L.E., & Hansen, M.S. 2019. Eksperimentel smitte af mink med plasmacytosevirus i foder. Faglig Årsberetning 2018, 96-101. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, plasmacytose, mink, foder.

Abstract

Feed is often implicated in outbreaks of disease in mink, including outbreaks of Aleutian mink disease (AMD), also known as plasmacytosis. In this study we investigated the transmission of Aleutian mink disease virus (AMDV) via feed under experimental conditions. Experiments were performed with healthy Sapphire mink, fed with surplus feed left over by mink experimentally infected with AMDV Sæby strain virus. AMD virus was detected in samples of the surplus feed, but transmission to the recipient mink

was not detected. Experiments were also performed with healthy sapphire mink, that were fed with different doses of Sæby-2016 or Holstebro-2016 virus spleen homogenates mixed into their feed, but transmission of the viruses was not detected. Finally, we fed the Sæby strain 2016 virus, mixed into feed, to sapphire mink, that were immunosuppressed by beforehand treatment with prednisolon. AMD virus was successfully transmitted to three out of six prednisolon treated mink. The remaining three animals were euthanized before transmission could be detected. The results from these experiments demonstrate that immunosuppressed mink are susceptible to AMDV virus in feed. We speculate that secondary transmission within the farm can proceed by the natural route of transmission, if single debilitated animals have been initially infected by feed.

Hjulsager, C.K., Lazov, C.M., Chriél, M., Kvisgaard, L.K., Larsen, L.E., & Hansen, M.S. 2019. Experimental infection of mink with plasmacytosis virus in feed. Annual Report 2018, 96-101. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, plasmacytosis, mink, feed.

Introduktion

Plasmacytosevirus, også kaldet Aleutian Mink Disease Virus (AMDV) er et parvovirus, der tilhører Amdoparvovirus slægten i Parvoviridae familien (ICTV, 2009). AMDV er årsag til Aleutian Disease (AMD) i mink, der også benævnes plasmacytose, og er en alvorlig og tabsvoldende sygdom. Infektion af minkhvalpe resulterer ofte i lungebetændelse og åndedrætsbesvær med dødelig udgang (Alexandersen and Bloom, 1987), mens infektion af voksne mink medfører en kronisk infektion med immunkompleksdannelse, som kan være fatal (Porter et al., 1980). Mink der er bærere af Aleutian genet, fx safirmink, er mere modtagelige for udvikling af alvorlig og hurtigudviklende AMD end visse andre typer mink (Hadlow et al., 1983). AMDV bliver udskilt i blod, spyt, urin og fæces, og det er påvist eksperimentelt, at AMDV i fæces og homogenat af milt kan inficere mink via den oro-nasale rute (Gorham et al.,

1964). AMDV viruspartikler er meget stabile og forbliver infektiøse efter længere tids ophold i miljøet. De kan tåle høje temperaturer og et bredt pH spektrum (ICTV, 2009). Før 2015 tilhørte alle AMD virus i danske farmede mink så vidt vides Sæbystammen, bortset fra et enkelt udbrud i 2002 med en anden AMDV stamme, kaldet Sole-stammen (Christensen et al., 2011). I efteråret 2015 startede et stort AMDV udbrud, der involverede mange farme i Jylland og på Fyn. Det virus, der var involveret, udgjorde en ny stamme, Holstebro-stammen, og endnu et udbrud på Sjælland involverede en tredje stamme, som nu kaldes Sjællandstammen (Ryt-Hansen et al., 2017). Derudover har vi AMD virus tilhørende Bornholm-stammen i vilde mink på Bornholm (Jensen et al., 2012).

På baggrund af epidemiologiske undersøgelser menes udbruddene med AMDV Sole- og Holstebrovirus-stammerne at være foderbårne udbrud (Christensen et al., 2011; Ryt-Hansen et al., 2017). Minkfoder produceres 3-7 gange ugentligt afhængig af sæsonen. Detaljerede foderplaner kan ses på fodercentralernes hjemmesider. Overordnet indeholder foderet biprodukter fra fjerkræslagterier og svineslagterier, der kan være varmebehandlet og fisk eller fiskeafskær. Animalsk og vegetabilsk fedt, samt forskellige kornprodukter tilsættes med henblik på at opnå den korrekte fordeling af protein, fedt og kulhydrat i foderet. Produkterne, der anvendes til foderproduktionen, er dels af dansk oprindelse, men der importeres også råvarer fra bl.a. Tyskland, Sverige, Polen og de Baltiske lande. Foderkvaliteten er undertiden dårlig (Jensen et al., 2016; Jensen et al., 2017), og hvis foderet ikke varmebehandles eller på anden vis inaktiveres, kan det potentielt indeholde virus og bakterier, der kan smitte mink og give anledning til foderbårne udbrud. Virus kan i modsætning til bakterier ikke opformeres i foderet. Derfor kan virus være inhomogent tilstede i foderet. I overensstemmelse hermed vil det ikke nødvendigvis være alle farme, der modtager samme foderbatch, som vil modtage smittet foder. Ved udbrud med Holstebrovirus i 2015 så man en korrelation til fodercentral, men det var ikke alle farme tilknyttet samme fodercentral, der blev smittet (Ryt-Hansen et al., 2017). Der er ingen rapporter om påvisning af plasmacytosevirus direkte i det foder, der formodes relateret til Sole- og Holstebro-udbruddene, formodentlig fordi de relevante (inficerede) foderbatches ikke var tilgængelige, da udbruddene blev erkendt. Formålet med dette studium var at undersøge, om inficeret foder kunne smitte mink med plasmacytosevirus under eksperimentelle forhold.

Materialer og metoder

Mink

Mink (*Neovison vison*) blev indkøbt fra 2 sjællandske minkfarme. Minkene blev testet negative for antistoffer mod AMDV (Dam-Tuxen et al., 2014), inden de blev flyttet fra farmene og indsat i forsøgsdyrsfaciliteterne.

Virus

Virusinokula var homogenater af milt i PBS (8,2 g/L NaCl; 2,8 g/L Na₂HPO₄; 0,3 g/L KH₂PO₄; pH 7.1) med 4 % penicillin-streptomycin (SIGMA) fra mink smittet med Sæbystammen: AMDV/Denmark/Saebby/799.1/2005 (Jensen et al., 2014), AMDV/Denmark/Saebby/52-1/2016 eller Holstebro-stammen: AMDV/Denmark/Holstebro/78-1/2016. Inokula med forskellig dosis blev fremstillet ved fortyn-

ning i PBS med 4 % penicillin-streptomycin (SIGMA) og opbevaret ved -80 °C indtil brug. Virustypen i inokula blev verificeret ved partiel NS1 gen sekventering.

Forsøgsdesign

Smitte med AMDV ved indtagelse af foder, der havde været udsat for kontakt med AMDV, blev udført som fire separate eksperimentelle infektionsforsøg. Alle forsøg blev udført på DTU Veterinærinstituttet, Lindholm, Kalvehave, Danmark. Minkene blev opstaldet indendørs i isolationsstalde beregnet til dyreforsøg. Minkburene var almindelige standardbure til minkfarme. Hver mink gik i sit eget bur, uden direkte fysisk kontakt til andre mink. Ved ankomst til forsøgsdyrstalden blev dyrene vurderet klinisk, og fik minimum 1-2 dages akklimatisering inden forsøgsopstart. Mink, der i løbet af forsøget udviste kliniske symptomer som fx sår, alvorligt væggtab, manglende ædelyst, nedsat velbefindende, alvorlige mavetarmlidelser, luftvejslidelser eller urinvejssymptomer blev aflivet. Minkene blev fodret dagligt ad libitum, med minkfoder fra en kommerciel foderproducent, som blev opbevaret ved -20 °C indtil brug. Ved udfodring blev en foderration placeret ovenpå buret.

Blodprøver blev udtaget fra en vene i forbenet (Vena cephalica) under fiksering i en fælde. Ved aflivning blev minkene først bedøvet med ketamin/xylazin og dernæst injiceret intrakardielt med pentobarbital, og der blev udtaget 9 ml blod ved hjertepunktur. Til AMDV antistofundersøgelse blev blod overført til blodkort til ELISA test (forsøg 2-4) eller til kapillærrør til CIEP test (forsøg 1). Serum blev separeret fra blod udtaget i blodprøveglasser eller serumseparationsrør (KABE Labortechnik GmbH, Tyskland) ved centrifugering i 3 min ved 12.000 rpm i en bordcentrifuge. Aflivede mink blev obduceret straks eller opbevaret ved -20 °C indtil obduktion. Organerne blev evalueret makroskopisk, og vævstykker til PCR undersøgelse blev frosset individuelt ved -80 °C.

Forsøgene blev udført i henhold til Forsøgsdyrtilsynets tilladelse (2014-15-2934-01067, 2016-15-0201-01106).

Forsøg 1

I dette forsøg blev overførsel af smitte med AMDV Sæby-virus fra inficerede mink til raske mink via foder undersøgt. Forsøget blev udført i perioden 19. august – 5. november 2015. Minkene ankom til forsøgsfaciliteterne 6 dage inden forsøgets udførelse.

36 brune avlstæver blev inokuleret intraperitonealt (IP) under bedøvelse med ketamin/xylazin på post inokuleringsdag (PID) 0 med 1 ml AMDV/Denmark/Sæby/799.1/2005 fortyndet 1:104 (Jensen et al., 2014). Disse dyr donerede overskudsfoder til en foderblanding, der blev udfodret til recipient mink under forsøget, og benævnes herefter donormink. Donorminkene var opstaldet i en separat stald fra PID -6 til PID 78. I takt med at dyrene serokonverterede vist ved CIEP test, blev 20 mink aflivet. Dette blev foretaget af dyrevelfærdsmæssige hensyn, da der på det tidspunkt var tilstrækkeligt med positive dyr til at donere AMD virus til foderet, og for at give plads til sentinelmink. Således var der fra PID 43 kun 16 IP inokulerede donormink. De 20 aflivede mink blev erstattet af raske mink, der fungerede som sentineller, dvs raske dyr der blev udsat for dyr-til-dyr smitte fra de positive mink,

via den normale rute. Sentinellerne donerede ikke foder til forsøget.

11 recipientmink, safir minkhunner, ca. 16 uger gamle ved indsættelse i forsøget, og opstaldet i en separat stald, blev fodret med en 1:1 blanding af frisk optøet foder og overskudsfoder indsamlet fra toppen af donorminkenes bure. Det indsamlede overskudsfoder havde således været i kontakt med AMDV smittede mink. Det indsamlede foder blev tilsat vand indtil den oprindelige konsistens blev opnået og blandet omhyggeligt ved omrøring med friskoptøet foder samt tilsat 5 ml B-vitamin (Agrokorn) pr. 5 kg foder for at øge smageligheden. Blandingen blev anvendt dagen efter indsamling af overskudsfoder og udfodret til recipientminkene.

Prøver af foderblandingerne, blev udtaget mandag, torsdag og lørdag i hele forsøgsperioden. Foderprøverne blev opbevaret ved -20 °C indtil test for AMDV. Blodprøver blev taget på PID 8 fra donorminkene, og herefter hver mandag og torsdag indtil aflivning eller indtil maksimalt 11 blodprøver var udtaget. Donorminkene blev aflivet PID 78. Blodprøver blev taget fra recipientmink på PID 1, PID 12 og derefter hver torsdag fra PID 22 indtil aflivning PID 77.

Forsøg 2

I dette forsøg blev modtagelighed for oral smitte via foder med Sæby og Holstebro AMDV-stammerne testet. Forskellige doser af hhv. Sæby-2016 og Holstebro-2016 virus inokula blev indgivet med foderet, for at undersøge om raske mink blev smittet. En ml virus blev blandet i lidt kattevådfoder og givet inden almindelig fodring. For hver virusstamme blev 9 voksne safirmink, ca. 1 år gamle, inokuleret oralt via foderet i grupper á 3 dyr med 3 forskellige doser af virus: fortynding 1:108, 1:106 eller 1:104. Infektiviteten af de to inokula blev testet parallelt med foderforsøget ved inokulering IP under bedøvelse med ketamin/xylazin. Tre mink blev inokuleret IP med 1 ml af Holstebro-2016 inokulum og tre andre mink blev inokuleret IP med 1 ml Sæby-2016 inokulum, begge med dosis 1:104.

Forsøget blev udført 3. april – 1. juni 2017; minkene ankom til forsøgsfaciliteten en uge før forsøgsstart. Af kontamineringshensyn blev inokulering med Sæby-virus foretaget dagen før Holstebro-virus inokulering. Prøveudtagelse var ligeledes forskudt for nogle prøveudtagelsesdage. Der blev udtaget blodprøver fra mink inokuleret med Sæby-virus på PID -2, 8, 15, 22, 28, 33, 41, 47 og ved aflivning PID 55 og fra mink inokuleret med Holstebro-virus på PID -3, 7, 14, 21, 28, 32, 41, 46 og ved aflivning PID 56. Disse blev testet for AMDV antistoffer og for IP inokulerede dyr også for virus i serum. Serum fra foderinokulerede mink fra PID 33 og ved aflivning blev testet for AMD virus. Milt og krøslymfeknude fra alle aflivede mink blev testet for AMD virus.

Forsøg 3

I dette forsøg blev modtagelighed for oral smitte via foder med Sæby og Holstebro AMDV-stammerne testet. Dette forsøg blev udført på tilsvarende vis som forsøg 2, men med 3 grupper á 4 mink for hver virusstamme, og med højere dosis af virus: 1:104, 1:103 eller 1:10. Forsøget blev udført 7. september – 22. november 2017 på ca. 6 mdr. gamle safirmink. Virus blev givet til minkene både på PID

0 og på PID 1. Begge gange blev ½ ml virus inokulum blandet i en lille smule foder, som blev givet inden resten af den normale portion foder. Inokulum blev optøet fra -80 °C på PID 0, og materiale til PID 1 blev opbevaret på køl indtil brug.

Infektiviteten af inokulum blev testet parallelt ved inokulering IP under bedøvelse med ketamin/xylazin PID 0 af 2 mink med 1 ml Holstebro-2016 inokulum og af 2 andre mink med ½ ml Sæby-2016 inokulum; begge inokula var dosis 1:104.

Minkene var opstaldet i 4 separate stalde til hhv. Sæby-virus foderinokulering, Holstebro-virus foderinokulering, Sæby-virus IP og Holstebro-virus IP inokulering. Der blev udtaget blodprøver på PID -1, 28, 42, 56 og ved aflivning PID 70. Serum fra alle dyr blev testet for AMDV antistoffer ved ELISA. Serum fra IP dyrene blev også testet for AMD virus med real-time PCR. Milt blev udtaget af de aflivede dyr og undersøgt for AMD virus ved real-time PCR.

Forsøg 4

I dette forsøg blev modtagelighed for oral smitte med sæbystammen via foder efter immunsuppression af minkene undersøgt. Forsøget blev udført i perioden 5. april – 24. maj 2018 på safir avlshanner.

Seks mink blev immunsupprimeret ved intramuskulær injektion med 5 mg/kg methylprednisolonacetat (Depomedrol Vet, Orion Pharma Animal Health A/S) på PID -1. Fra PID 6 blev den immunsupprimerende virkning opretholdt ved daglig tildeling af knuste prednisolon tabletter (Dermipred Vet, Ceva Animal Health A/S) opblandet i kattevådfoder, før den daglige fodring med minkfoder. Startdosis for prednisolon var 4 mg/kg i perioden PID 6-15. Grundet vægttab og bivirkninger blev dette reduceret til 3 mg/kg i perioden PID 16-19 og 2 mg/kg PID 20-44.

De prednisolonbehandlede mink blev inokuleret oralt på PID 0, 1, 2 og 3 med ½ ml ufortyndet AMDV/Denmark/Sæby/52-1/2016 inokulum oprørt i lidt kattevådfoder før den daglige fodring.

Infektiviteten af inokulum blev testet parallelt på 2 mink opstaldet i en separat stald. Disse blev inokuleret IP med 1 ml inokulum under bedøvelse med ketamin/xylazin. Ustabiliserede og EDTA stabiliserede blodprøver blev udtaget PID -1, 13, 28, og ved aflivning PID 44.

Viruspåvisning

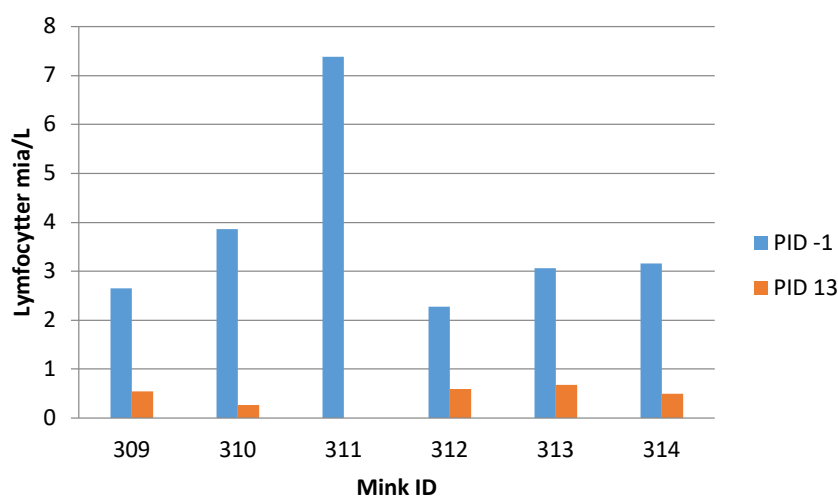
DNA blev oprenset med QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) fra 200 µl serum eller 200 µl homogenat af vævsprøver i ATL Buffer (QIAGEN) som tidligere beskrevet (Ryt-Hansen et al., 2017), men med manuelt udført oprensning. Detektion af AMDV DNA blev udført ved konventionel PCR (Ryt-Hansen et al., 2017) (forsøg 1) eller kvantitativ real-time PCR i dobbeltbestemmelse (forsøg 2-4). Sekventering af partiel NS1 gene er tidligere beskrevet (Ryt-Hansen et al., 2017).

Antistofpåvisning

Sera og blodprøver blev testet for specifikke AMDV antistoffer ved CIEP eller ELISA teknik på København Diagnostic Laboratory, Glostrup, Denmark (Dam-Tuxen et al., 2014).

TABEL 1 AMDV ANTISTOF (AB) OG VIRUSPÅVISNING I SERUM FRA MINK I FORSØG 4 MED HHV. ELISA OG PCR. "--" ANGIVER AT DER IKKE FOREFINDES EN PRØVE FRA DEN PÅGÆLDENDE PID, SFA. PRÆMATUR AFLIVNING ELLER DØD. FORSØGET BLEV AFSLUTTET PID 44. NEG, NEGATIV; POS, POSITIV.

GRUPPE	MINK ID	PID -1		PID 13		PID 28		PID 44	
		AB	VIRUS	AB	VIRUS	AB	VIRUS	AB	VIRUS
foder	309	neg	neg	neg	neg	-	-	-	-
foder	310	neg	neg	neg	neg	neg	pos	pos	pos
foder	311	neg	neg	-	-	-	-	-	-
foder	312	neg	neg	neg	pos	pos	pos	pos	pos
foder	313	neg	neg	-	-	-	-	-	-
foder	314	neg	neg	neg	pos	neg	pos	pos	pos
IP kontrol	317	neg	neg	neg	pos	pos	pos	pos	pos
IP kontrol	318	neg	neg	neg	pos	pos	pos	pos	pos

FIGUR 1 LYMFOCYTTAL FOR DE ORALT INOKULEREDE MINK FØR PID -1 OG EFTER IMMUNSUPPRIMERENDE BEHANDLING PID 13, FORSØG 4. FOR MINK 313 ER VIST LYMFOCYTTAL FOR PID -1 OG PID 6, DA DENNE MINK BLEV AFLIVET PID 6. DER BLEV IKKE UDTAGET BLODPRØVE FRA MINK 311 EFTER BEHANDLING, DA DEN BLEV FUNDET SELVDØD PID 4.

DETTE FORSØG VISTE, AT IMMUNSUPPRIMEREDE DYR KUNNE SMITTES VIA DEN ORALE RUTE MED DET AMDV/DENMARK/SAEBY/52-1/2016 VIRUS INOKULUM, DER VAR BLENDET I FODERET.

Blodprofil

Hæmatologisk undersøgelse af lymfocytaltal blev udført på EDTA stabiliserede blodprøver på Veterinært Diagnostisk Laboratorium, Københavns Universitet.

Resultater

Forsøg 1

AMD virus DNA blev påvist i 8/32 foderprøver med opblandet overskudsfoder fra de IP inokulerede minks foderationer. Mink, der donerede overskudsfoder, havde antistoffer mod plasmacytosevirus på PID 15 eller 19, bortset fra 2 dyr, som slet ikke serokonverterede under forsøget. Ingen mink, der modtog overskudsfoder fra de smittede mink, serokonverterede, og virus kunne ikke påvises i serum og milt. Dette viser, at selvom virus var til

stede i foderet, blev minkene ikke smittet, selvom de blev fodret med det inficerede foder.

Forsøg 2

Alle foderinokulerede dyr forblev AMDV seronegative under hele forsøget, og AMD virus kunne ikke påvises i milt og krøslymfeknude.

Infektiviteten af virusinokula blev demonstreret ved at 3/3 mink inokuleret IP med Sæbystammen havde serokonverteret PID 20 og virus kunne påvises i serum fra PID 8 (n=1) og PID 15 (n=2), samt i milt og krøslymfeknude PID 55 (n=3). Tilsvarende serokonverterede 3/3 mink, der blev inokuleret IP med Holstebro stammen, PID 21 (n=1) og PID 28 (n=2). Virus kunne påvises i serum fra PID 14 (n=2) og

PID 21 (n=1), samt i milt og krøslymfeknude ved aflivning PID 56.

Resultaterne viser, at selvom virus var til stede i foderet, blev minkene, der modtog det inficerede foder, ikke smittede.

Forsøg 3

Alle foderinokulerede dyr forblev seronegative under hele forsøget, og AMD virus kunne ikke påvises i milt. Infektiviteten af inokula blev demonstreret i de IP podede mink. De to Sæby-virus inokulerede mink havde serokonverteret og var viruspositive i serum PID 28. En Holstebro-virus inokuleret mink havde serokonverteret PID 42 og var viruspositiv PID 28 i serum og i milt ved aflivning. Den anden Holstebro-inokulerede mink serokonverterede ikke, men virus kunne påvises i milten ved aflivning. Resultaterne viser, at selvom virus var til stede i foderet, blev minkene, der modtog det inficerede foder, ikke smittede, på trods af at der blev anvendt højere doser af virus end i forsøg 2.

Forsøg 4

Tre mink udgik af forsøget. En udviste stereotype adfærd og blev aflivet PID 15, en blev fundet død PID 4 og en blev aflivet PID 6 på grund af potesår. De øvrige tre oralt foderinokulerede mink blev inficeret med AMDV og serokonverterede (tabel 1). De to IP inokulerede kontroldyr blev ligeledes inficerede og serokonverterede (tabel 1).

Efter prednisolon behandlingen viste de hæmatologiske undersøgelser et kraftigt fald i lymfocytallet (lymfopeni) hos de behandlede mink (fig. 1). Prednisolon behandlingen medførte som forventet øget aktivitet, øget drikkelyst og pelstab hos de behandlede mink. Ligeledes blev der observeret vægttab, hvilket blev korrigeret ved øget foder tildeling.

Diskussion

Foder er i flere tilfælde impliceret som smittekilde til sygdomsudbrud forårsaget af forskellige patogener, herunder også som årsag til udbrud af plasmacytose (Ryt-Hansen et al., 2017). Mistanke om foder som en potentiel smittekilde er primært baseret på en korrelation mellem fodercentral og smittede farme. Plasmacytosevirus er imidlertid ikke blevet påvist direkte i foderet i de pågældende tilfælde, hvilket bl.a. kan skyldes at relevante foderprøver ikke har været tilgængelige, at mængden af virus har været meget lille eller at virus har været inhomogent fordelt i foderet. Når et udbrud erkendes, vil der ofte ikke være foder tilbage af de relevante foderpartier. I nærværende studier forsøgte vi eksperimentelt at afgøre, om inficeret foder kan udgøre en smittekilde for mink. I forsøg 1 blev det undersøgt, om plasmacytosevirus kunne overføres via foder fra smittede mink til raske mink. Dette kunne ikke vises under de anvendte forsøgsbetingelser, på trods af at vi anvendte safirmink, som er særligt følsomme overfor udvikling af plasmacytose (Hadlow et al., 1983), og på trods af at virus kunne påvises i foderprøver efter kontakt med smittede mink. Det kunne imidlertid ikke afgøres, om det påviste virus i foderprøven var infektiøst, da virus blev påvist med PCR. Ved anvendelse af PCR påvises virus ved detektion af virusgenomet, og metoden er uafhængig af, om virus er infektiøst eller ej. En

mulig årsag til, at det virusholdige foder ikke kunne smitte til raske mink, selv hvis det rent faktisk var infektiøst, kan være, at dosis var for lav. Tidligere studier har påvist en dosisafhængighed for udvikling af AMDV infektion (Jensen et al., 2016). Derfor udførte vi forsøg med større doser af infektiøst virus opblandet i foder og indgivet direkte ved fodring til raske safirmink (forsøg 2 og forsøg 3). Det viste sig heller ikke at være tilstrækkeligt til at smitte mink under de anvendte forsøgsbetingelser.

Det er ofte svært at reproducere infektioner under eksperimentelle omstændigheder, hvilket kan skyldes at forsøgsbetingelserne ikke afspejler feltbetingelser, idet dyr under eksperimentelle forhold er udsat for mindre stress end dyr på produktionsfarme. For at efterligne feltbetingelser, hvor man må formode, at der vil være dyr med en dårlig immunstatus, udførte vi endnu et fodringsforsøg, hvor vi behandlede forsøgsmink med prednisolon inden oral inokulering med infektiøst plasmacytosevirus via fodring (forsøg 4). Tildelingen af prednisolon medførte immunsupprimering af de behandlede mink, demonstreret ved et kraftigt fald i antallet af lymfocytter, hvilket netop er den forventede immunsuppressive effekt af prednisolon (Lægemiddelstyrelsen, 2018). Smitte af immunsupprimerede dyr med plasmacytosevirus via foderet lykkedes for 3/6 mink. De resterende tre mink, der ikke blev påvist smittede, udgik af forsøget inden det kunne forventes at påvise smitte baseret på serokonvertering og viruspåvisning i de smittede dyr. Dette resultat viste, at mink kan smittes med AMDV ved oral optagelse via foderet, hvis minken er immunsvækket. Det skal dog bemærkes, at dosis i immunsuppressionsforsøget var 20 x højere end i den gruppe med højeste dosis i forsøg 3, så det kan ikke udelukkes, at dosis, samt indgivelse over flere dage, også har haft en betydning for smitte.

Epidemiologisk er der evidens for, at AMDV kan introduceres til farme via foderet under feltbetingelser (Ryt-Hansen et al., 2017). På baggrund af resultaterne i denne afprøvning er det en oplagt hypotese, at foderbårne udbrud kan skyldes, at der på de udbrudsramte farme er enkelte eller flere dyr med nedsat modstandskraft, som derfor smittes hvis foderet er inficeret. Efterfølgende vil sekundær smittespredning indenfor farmen ske horisontalt via den sædvanlige smittevej, der formodentlig er mere effektiv end den direkte fodersmitte. Således vil også dyr, der ikke er immunsvækkede, smittes af inficeret foder. Flere undersøgelser er nødvendige, for at undersøge dette nærmere.

Konklusion

Resultaterne af undersøgelserne viser, at det er muligt at smitte mink med plasmacytosevirus via foderet, men at denne smittevej formentlig ikke er særlig effektiv og kræver tilstedeværelsen af dyr, der er særligt modtagelige. Hvis enkelte dyr på en farm smittes via inficeret foder, vil sekundær smittespredning indenfor farmen resultere i at også usvækkede dyr bliver smittet.

Dette fund understøtter resultatet af epidemiologiske undersøgelser (Ryt-Hansen et al., 2017), der på den ene side har vist, at plasmacytoseudbrud har kunnet relateres til specifikke fodercentraler, men også har vist, at ikke alle farme, der har modtaget foder fra de pågældende fodercentraler blev smittet.

Tak

Undersøgelserne blev finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden og DTU Veterinærinstituttet. Tak til dyrlæge Louise Lohse og staldpersonalet på Lindholm for at passe dyrene under forsøget. Tak til laborant Nina Dam Grønnegaard for udførelse af PCR analyserne og til København Diagnostik for udførelse af antistofundersøgelserne. Tak til Tina Struve, København Fur, for AMDV positive miltprøver af Sæby og Holstebro stammerne fra 2016.

Referencer

- Alexandersen, S., Bloom, M.E., 1987. Studies on the sequential development of acute interstitial pneumonia caused by Aleutian disease virus in mink kits. *J. Virol.* 61, 81–86.
- Christensen, L.S., Gram-Hansen, L., Chriél, M., Jensen, T.H., 2011. Diversity and stability of Aleutian mink disease virus during bottleneck transitions resulting from eradication in domestic mink in Denmark. *Vet. Microbiol.* 149, 64–71. doi:10.1016/j.vetmic.2010.10.016
- Dam-Tuxen, R., Dahl, J., Jensen, T.H., Dam-Tuxen, T., Struve, T., Bruun, L., 2014. Diagnosing Aleutian mink disease infection by a new fully automated ELISA or by counter current immunoelectrophoresis: a comparison of sensitivity and specificity. *J. Virol. Methods* 199, 53–60. doi:10.1016/j.jviromet.2014.01.011
- Gorham, J.R., Leader, R.W., Henson, J.B., 1964. The Experimental Transmission of a Virus Causing Hypergammaglobulinemia in Mink: Sources and Modes of Infection. *J. Infect. Dis.* 114, 341–345.
- Hadlow, W.J., Race, R.E., Kennedy, R.C., 1983. Comparative pathogenicity of four strains of Aleutian disease virus for pastel and sapphire mink. *Infect. Immun.* 41, 1016–23.
- Hammer, A.S., Andresen, L., Aalbæk, B., Damborg, P., Weiss, V., Christiansen, M.L., Selsing, S., Bahl, M.I., 2017. Abortion and mortality in farm mink (Neovison vison) associated with feed-born *Clostridium limosum*. *Vet. Microbiol.* 203, 229–233. doi:10.1016/j.vetmic.2017.03.017
- ICTV, 2009. Parvoviridae [WWW Document]. 9th ICTV Report, 2009 Taxon. Release. URL https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/ssdna-viruses-2011/w/ssdna_viruses/151/parvoviridae (accessed 12.2.18).
- Jensen, T.H., Chriél, M., Hansen, M.S., 2016. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection. *Acta Vet. Scand.* 58, 35–45. doi:10.1186/s13028-016-0214-7
- Jensen, T.H., Christensen, L.S., Chriél, M., Harslund, J., Salomonsen, C.M., Hammer, A.S., 2012. High prevalence of Aleutian mink disease virus in free-ranging mink on a remote Danish island. *J. Wildl. Dis.* 48, 497–502.
- Jensen, T.H., Hammer, A.S., Chriél, M., 2014. Monitoring chronic infection with a field strain of Aleutian mink disease virus. *Vet. Microbiol.* 168, 420–7. doi:10.1016/j.vetmic.2013.11.041
- Jensen, V.F., Sommer, H.M., Struve, T., Clausen, J., Chriél, M., 2017. A cross-sectional field study on potential associations between feed quality measures and usage of antimicrobials in commercial mink (Neovison vison). *Prev. Vet. Med.* 143, 54–60. doi:10.1016/j.prevetmed.2017.04.012
- Jensen, V.F., Sommer, H.M., Struve, T., Clausen, J., Chriél, M., 2016. Factors associated with usage of antimicrobials in commercial mink (Neovison vison) production in Denmark. *Prev. Vet. Med.* 126, 170–182. doi:10.1016/j.prevetmed.2016.01.023
- Lægemeddelstyrelsen, 2018. Produktresumé for Depo-Medrol Vet., injektionsvæske, suspension. Publiceret 30/04/2018.
- Langford, E. V., 1970. Feed-borne *Clostridium chauvoei* infection in mink. *Can. Vet. J. = La Rev. Vet. Can.* 11, 170–2.
- Liu, H., Li, X.-T., Hu, B., Deng, X.-Y., Zhang, L., Lian, S.-Z., Zhang, H.-L., Lv, S., Xue, X.-H., Lu, R.-G., Shi, N., Yan, M.-H., Xiao, P.-P., Yan, X.-J., 2017. Outbreak of severe pseudorabies virus infection in pig-offal-fed farmed mink in Liaoning Province, China. *Arch. Virol.* 162, 863–866. doi:10.1007/s00705-016-3170-7
- Porter, D.D., Larsen, A.E., Porter, H.G., 1980. Aleutian Disease of Mink, in: *Adv Immunol.* pp. 261–286. doi:10.1016/S0065-2776(08)60046-2
- Ryt-Hansen, P., Hjulsager, C.K., Hagberg, E.E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A.G., Larsen, L.E., 2017. Outbreak tracking of Aleutian mink disease virus (AMDV) using partial NS1 gene sequencing. *Virol. J.* 14, 119–127. doi:10.1186/s12985-017-0786-5 ✕

SYGDOMSUDVIKLING VED AEROSOL OG INTRAPERITONEAL SMITTE MED PLASMACYTOSEVIRUS

Af Mette Sif Hansen, Mariann Chriél, Lars Erik Larsen & Charlotte Kristiane Hjulsager.
DTU Veterinærinstituttet, Kemitorvet B202, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark.

Sammendrag

Til trods for at intraperitoneal (IP) inokulation ikke er den naturlige smittevej ved Aleutian Mink Disease Virus (AMDV) infektion, anvendes denne inokulationsrute ofte eksperimentelt. Resultater fra tidligere studier indikerer at IP inokulation favoriserer leveren i forhold til udvikling af histologiske læsioner. For at få en bedre viden om AMDV sygdomsudviklingen sammenlignede vi effekten af IP- og aerosol (AE) inokulation, og naturlig smitte af sentinel mink. Sentinellerne blev ligeledes brugt til at undersøge hvornår i infektionsfasen der er størst risiko for naturlig smitte mellem mink. 46 safir minkvalpe blev inddelt i grupper: negative kontroller; mink der blev podet IP eller AE (ved brug af forstøverkammer og anæsthesimask) med AMDV; og sentineller, der i 2 ugers perioder blev udsat for naturlig smitte fra de IP podede mink. Mink fra hver gruppe blev aflivet efter 2, 5 eller 10 uger. Alle AMDV IP podede mink blev virus positive. I gruppen af AE podede mink kunne virus ikke påvises efter 2 uger, men efter 5 og 10 uger testede henholdsvis 50% og 100% positiv for AMDV. Virus blev påvist hos sentineller udsat for smitte i 2.-6. uge efter forsøgsstart. Som forventet medførte IP inokulation mere omfattende læsioner i leveren i forhold til AE inokulation. Aerosol modellen vurderes at afspejle naturlig AMDV infektion bedre end IP podning. Resultater fra sentinellerne indikerer, at risikoen for AMDV smitte mellem mink er størst tidligt i infektionsforløbet inden der kan findes antistof positive dyr på gården.

Hansen, M.S, Chriél, M., Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2019. Sygdomsudvikling ved aerosol og intraperitoneal smitte med plasmacytosevirus. Faglig Årsberetning 2018, 102-107. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, plasmacytose, Neovison vison, aerosol inokulering, sygdomsudvikling.

Abstract

Though intraperitoneal (IP) inoculation is not the natural pathway of Aleutian Mink Disease Virus (AMDV) infection, this inoculation route is often used experimentally. Results from previous studies indicate that IP inoculation favors the liver in relation to development of histological lesions. For a better understanding of the development of AMDV infection, we compared the effect of IP and aerosol (AE) inoculation, and natural infection of sentinel mink. The sentinals were also used to investigate when the risk of natural infection between mink is highest. 46 sapphire mink puppies were divided into groups: negative controls; mink inoculated IP or AE (using a nebulizer and anesthesia mask) with AMDV; and sentinels exposed to natural infection from the IP-inoculated mink during 2 week periods. Mink from each group were killed after 2, 5 or 10 weeks. All AMDV IP-inoculated mink became virus positive. In the group of AE-inoculated mink, virus could not be detected after 2 weeks, while after 5 and 10 weeks 50% and 100% respectively tested positive for AMDV. Virus was detected in sentinals exposed to infection in weeks 2-6 of the study. As expected, IP inoculation resulted in more extensive lesions in the liver compared to AE inoculation. The aerosol model is considered to reflect natural AMDV infection better than IP inoculation. Results from the sentinals indicate that the risk of AMDV infection between mink is highest during early infection before antibody positive animals can be found on the farm.

Hansen, M.S, Chriél, M., Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2019. Pathogenesis of mink plasmacytosis after aerosol and intraperitoneal inoculation. Annual Report 2018, 102-107. København Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Aleutian mink disease virus, plasmacytosis, Neovison vison, aerosol inoculation, pathogenesis.

Introduktion

Ved plasmacytose, infektion med Aleutian Mink Disease Virus (AMDV), hos voksne mink ses typisk infiltration af mononukleære celler inklusiv plasmaceller i flere organer (Alexandersen et al., 1994; Porter et al., 1980). Histologiske undersøgelser kan således indikere tilstedeværelsen af plasmacytose, men kun hvis der er de karakteristiske vævsforandring, derfor må den endelige diagnose verificeres ved påvisning af AMDV DNA ved PCR analyse eller AMDV antistoffer i blodprøver (Jensen et al., 2011).

Mink inficeres formodentligt med AMDV ved indtagelse af virus via munden (oralt) eller ved inhalering af virus (aerogent). Ved eksperimentelle AMDV studier er den hyppigst anvendte inokulationsrute intraperitoneal (IP; dvs. i bughulen) injektion af organhomogenat fra AMDV positive smittede mink. Til trods for at IP inokulation ikke er den naturlige smittevej, anvendes denne inokulationsrute for at sikre, at infektionen slår an, da der er usikkerhed for opnåelse af smitte efter oral (via munden) eller intranasal (via næsehulen) inokulation. Fra andre dyrearter og sygdomme er det kendt, at inokulationsruten har betydning for sygdomsudviklingen ved infektion med virus, bakterier og parasitter (França et al., 2012; Rolao et al., 2004; Nnalue, 1991). Et nyligt studie viste en tendens til, at mink, der var inokuleret IP med AMDV, først udviklede læsioner i leveren, hvorimod forandringer i andre organer blev udviklet senere (Jensen et al., 2016). Dette antages at bero på, at IP inokulation favoriserer leveren, idet organet ligger i bughulen og har en stor overflade, samt stor blodgennemstrømning. Derimod formodes det, at virus ved IP inokulation først når til f.eks. lunger og nyrer (der også ligger i bughulen, men er dækket af et tykt lag fedt), efter der er opstået viræmi.

Dette studie blev gennemført for at få en bedre viden om AMDV sygdomsudviklingen ved at undersøge effekten af forskellige inokulationsruter. Læsioner og sygdomsudvikling ved den "klassiske" eksperimentelle IP inokulationsrute blev sammenlignet med den mere naturlige smittevej via intranasal aerosol inokulation og med naturligt inficerede mink (sentineller). Sentinellerne blev også anvendt til at undersøge på hvilket stadie i infektionen, der er størst risiko for naturlig smitte fra mink til mink ved AMDV infektion.

Materiale og metoder

Mink

I alt 46 safir minkhvalpe (Neovison vison) blev indsat i forsøgsstalden i august 2017. Minkene var testet og fundet negative for antistoffer mod AMDV.

Minkene blev opdelt i 5 grupper:

IP-neg: Negative kontroller, intraperitonealt inokuleret med mock (podemateriale uden virus) (n=6)

AE-neg: Negative kontroller, aerosol inokuleret med mock (n=6)

IP: Intraperitonealt inokuleret med AMDV (n=12)

AE: Aerosol inokuleret med AMDV (n=12)

SE: Sentineller (n=10)

Forsøgsdesign

Alle forsøg blev udført på DTU Veterinærinstituttet, Lindholm, Danmark. Minkene blev opstaldet i isolationsrum designet til minkforsøg med 12 standard minkbure med

en redekasse til hvert bur. Grupperne var fordelt i separate isolationsrum således at gruppe IP-neg og AE-neg gik sammen, gruppe AE var opstaldet alene, og gruppe IP gik sammen med 2 sentineller ad gangen (se nedenfor). I gruppe IP-neg og AE-neg gik en han og en farve-mærket hun i samme bur. Minkene i gruppe AE, IP og SE var opstaldet individuelt. I gruppe AE var der yderligere faste skillerum mellem burene. Der blev fodret med standard kommercielt minkfoder. Ved ankomst til forsøgsdyrstalden blev minkene vurderet klinisk raske og akklimatiserede i fire dage før forsøgets start.

Mink, der udviste alvorlige eller længerevarende kliniske symptomer i løbet af forsøgsperioden (sår, væggtab, manglende ædelyst, nedsat velbefindende, mavetarm-lidelser, luftvejslidelser eller urinvejssymptomer), blev aflivet.

Minkene blev observeret dagligt og vurderet klinisk ved hjælp af et scoringssystem, som beskrevet af Jensen et al. (2016) i forhold til: generel tilstand, respiration, appetit og fæces. Hver uge blev minkene vejlet og der blev taget blodprøve fra en vene i forbenet (Vena cephalica) under manuel fiksering.

Ved aflivning blev minkene først bedøvet med ketamin/xylazin intramuskulært (IM) og dernæst injiceret intrakardielt med pentobarbital. Minkene blev obduceret og organerne vurderet makroskopisk. Vævstykker fra lunge, milt, lever, tyndtarm, krøslymfeknude, nyre og hjerne blev udtaget til histologisk undersøgelse og til PCR analyse. Materialet til PCR blev frosset ved -80 °C.

Forsøgene blev udført i henhold til Forsøgsdyrstilsynets tilladelse (journal nummer 2016-15-0201-01106).

Eksperimentel infektion med AMDV eller mock

Virusinokula var fremstillet af milt homogenater fra mink smittet eksperimentelt med Sæbystammen AMDV/Denmark/Sæby/52-1/2016. Det optøede milt homogenat blev fortyndet 1:10.000 i PBS (8,2 g/L NaCl; 2,8 g/L Na₂HPO₄; 0,3 g/L KH₂PO₄; pH 7.1) med 4% penicillin-streptomycin (SIGMA).

AE og IP podning blev udført efter bedøvelse med ketamin (10-15 mg/kg) og xylazin (0,5-1 mg/kg) IM. Ved IP podning blev 1 ml mock (PBS med 4% penicillin-neomycin (gruppe IP-neg) eller AMDV milt homogenat (gruppe IP) injiceret i bughulen.

AE inokulering blev udført ved brug af et forstøverkammer (Hudson Micro Mist, Mediq Danmark A/S, Brøndby, Danmark) koblet til en anæstesimaske (Jørgen Kruuse A/S, Langeskov, Danmark), der dækkede næse og mund (Figur 1). Forstøverkammeret blev tilsat 2 ml mock (gruppe AE-neg) eller 2 ml AMDV milt homogenat (gruppe AE), hvorefter minken åndede 2 min i masken. Såfremt restmængden af podematerialet var over 0,9 ml åndede minken yderligere 1 min i masken.

To mink fra henholdsvis gruppe IP-neg og AE-neg, samt 4 mink fra henholdsvis gruppe AE og IP blev aflivet efter 2 uger, 5 uger og 10 uger.



FIGUR 1 PODNING AF MINK MED AMDV AEROSOLER VED BRUG AF FORSTØVERKAMMER OG ANÆSTESIMASKE.

Sentineller

Ti mink fungerede som sentineller, det vil sige dyr der ikke blev inokuleret eksperimentelt, men blev sat sammen med de IP inokulerede mink, hvorfra der var mulighed for naturlig smitte. Ved forsøgets start blev alle 10 sentineller opstaldet sammen med de negative kontroldyr. Hver anden uge (uge 0, 2, 4, 6, 8) blev to sentineller sat enkeltvis ind i tomme, rene bure i stalden med de IP inokulerede mink. Burene var placeret således at sentinellerne havde mindst én AMDV inokuleret mink på hver side. Efter to uger, blev de to sentineller overflyttet til en tom stald indtil aflivning efter yderligere to uger. Det samme gentog sig med to nye sentineller, der blev flyttet ind til de AMDV inokulerede mink, hvor de blev indsat i rengjorte bure som de to foregående sentineller havde gået i - og så fremdeles. Det vil sige sentinellerne var udsat for naturlig smitte med AMDV fra de IP inokulerede mink i følgende forsøgsperioder (uger): 0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10.

Patologi

Vævsprøver til histologi blev fikseret i formalin, paraffinindstøbt, snittet i 5 µm, monteret på standardglas og farvet med hæmatoxylin og eosin.

Ved den histologiske undersøgelse blev forandringer i lunge, lever, tarm, nyre og hjerne scoret efter graden af infiltration af mononukleære celler, der kan være tegn på AMDV infektion, som følger: fokal (lille lokal infiltration), mild (få og små infiltrationer), moderat (flere små eller få spredte infiltrationer) eller massiv (multifokale spredte infiltrationer).

DNA ekstraktion og PCR analyse

DNA blev oprenset med QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) fra 200 µl serum, inokulum eller 200 µl homogenat af vævsprøver i ATL Buffer (QIAGEN) som tidligere beskrevet (Ryt-Hansen et al., 2017), men med manuel oprensning. Påvisning af AMDV DNA blev udført ved in-house kvantitativ real-time PCR i dublikat. AMDV-G cellekultur isolat blev brugt som positiv oprensningskontrol og PCR kontrol. Som negativ kontrol anvendtes nukleasefrit vand.

Antistof ELISA

Blod afsat på blodkort (dried blood spot card; DBS card) blev undersøgt for AMDV antistoffer i en ELISA (ELISA

Danad) (Dam-Tuxen et al., 2014) på København Fur, Glostrup, Denmark.

Resultater

Kliniske observationer

I løbet af forsøget forekom der i alle grupper, men hyppigst hos de AMDV podede mink, forbigående perioder med varierende ædelyst. Minkene var alment upåvirkede. Andre kliniske observationer var enkelte dage med forbigående lind fæces hos enkelte mink i alle grupper.

Obduktionsfund

Ved obduktion var alle mink i normal foderstand eller velnærede. Der fandtes kun makroskopiske organforandringer hos få dyr ved aflivning efter 2 uger. To mink fra AE gruppen havde lidt forstørret milt og en fra IP gruppen havde uklare hjernehindere.

Ved obduktion efter 5 uger fandtes hos aerosol kontrol minkene forøget lungevæv i de forreste lungelapper hos en mink, samt lidt forstørret milt hos en anden. I AE gruppen havde en mink urindryp omkring forhudsåbningen, en anden havde blodkoagel i kraniekassen og grønlig gelatinøs fæces omkring anus. I den AMDV IP podede gruppe havde to mink urindryp og en havde lidt forstørret milt.

Ved forsøgets afslutning efter 10 uger fandtes nyreforandringer hos 3 mink i AE gruppen: hvor overfladen af nyren



FIGUR 2 NYRER MED MULTIPLE SMÅ BLØDNINGER PÅ OVERFLADEN FRA MINK PODET MED AMDV VIA AEROSOL

var ujævn/nubret hos to mink, en af disse mink havde desuden lidt forstørret milt og forstørrede lymfeknuder ved rektum; den sidste mink havde multiple små pletter på nyrens overflade og havde meget tandsten, den blev aflivet 2 dage tidligere end planlagt da den blødte fra munden (Figur 2). I IP gruppen havde en mink en forstørret galdeblære, en havde forstørrede lymfeknuder ved rektum og en anden havde tegn på nyrelidelse. Hos sentinellerne havde to mink lidt forstørret milt og en havde nubret/ujævn overflade på nyren.

Histologiske fund

Hos alle grupper fandtes histologiske forandringer i form af mononukleære celleinfiltrationer i lungen. Ved sammenligning af grupperne var forandringerne jævnt fordelt mellem fokale-, milde-, moderate- og massive infiltrationer, og der var ingen tydelig sammenhæng til varigheden af forsøget.

Bortset fra lungen fandtes stort set kun fokale infiltrationer af mononukleære celler i lever, tarm, nyre og hjerne hos de mock inokulerede (gruppe IP-neg og AE-neg) i uge 2, 5 og 10, dog havde en aerosol mock podet mink milde infiltrationer i leveren efter 10 uger i forsøget.

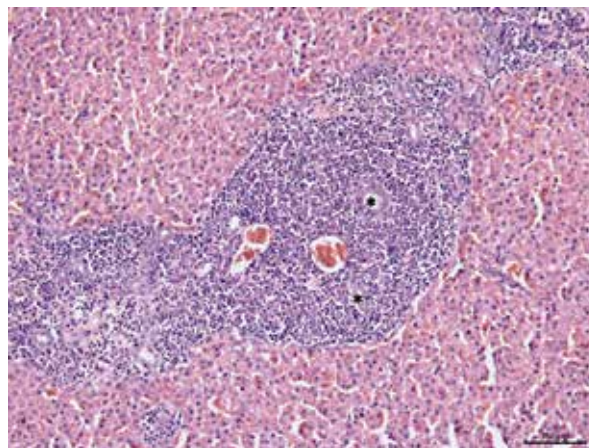
De IP AMDV podede mink viste mere udtalte leverlæsioner (moderate-massive) i form af mononukleære celleinfiltrationer i forhold til de AE podede, og jo længere varighed af infektionen jo højere var infiltrationsgraden af mononukleære celler (Figur 3).

Der var kun få forandringer i tarmen hos både AE og IP podede mink.

I nyren blev der påvist lette forandringer 5 uger efter infektion hos begge AMDV podede grupper. Efter 10 uger var forandringerne umiddelbart mest udtalte hos den IP podede gruppe, idet alle mink i denne gruppe havde massive infiltrationer med mononukleære celler i nyren mens dette kun blev påvist hos halvdelen af de aerosol podede mink.

Kun hos de IP podede blev der set forandringer i hjernen allerede efter 2 og 5 uger, dog kun hos enkelte mink. 10 uger efter infektion blev der påvist udtalte læsioner i hjernen hos både AE og IP podede mink.

Sentinellerne havde overvejende lette organforandringer. Som hos de andre grupper fandtes i lungen fokale (n=2), milde (n=3) eller moderate (n=3) mononukleære celleinfiltrationer hos 8/10 mink. Der var ingen sammenhæng



FIGUR 3 LEVER MED MASSIV MONONUKLEÆR CELLEINFILTRATION (SMÅ LILLA CELLER) I PORTAL OMRÅDER OMKRING GALDEGANGE (*) FRA MINK INOKULERET INTRAPERITONEALT MED AMDV.

mellem graden af forandringer og de uger minkene havde været i risiko for smitte. Bortset fra én mink (fra uge 2-4), der havde moderate forandringer i leveren, havde de resterende mink kun fokale forandringer i lever, tarm, nyre og hjerne.

Virus og antistof påvisning

Alle negative kontroller (gruppe IP-neg og AE-neg) forblev negative for AMDV og udviklede ikke AMDV antistoffer (tabel 1).

I gruppen af AE podede mink kunne virus ikke påvises i organerne efter 2 uger. Ved aflivning efter 5 og 10 uger testede henholdsvis 2 mink og 4 mink virus positive i alle organer (tabel 2). Der blev fundet mest virus i krøslymfeknuden hos 6/6 af de virus positive mink, og den laveste mængde virus blev fundet i lunge (3/3 mink) og hjerne (3/3 mink).

I gruppen af IP podede mink var alle AMDV PCR positive i alle organer efter 2, 5 og 10 uger, med højest virus mængde i organerne hos mink obduceret efter 5 uger og lavest efter 2 uger. Blandt alle IP podede mink blev der fundet mest virus i krøslymfeknuden hos 10/12 mink, kun 2 mink der blev obduceret efter 2 uger havde mest virus i henholdsvis lever eller milt. Den laveste mængde virus blev påvist i lunge (2/12 mink) eller hjerne (10/12 mink). Her var der ingen forskel mellem mink obduceret efter 2, 5 eller 10 uger.

TABEL 1 AMDV ANTISTOFFER I GRUPPERNE MED INTRAPERITONEALT (IP) OG AEROSOL (AE) MOCK PODEDE KONTROLLER (IP-NEG, AE-NEG), OG AMDV IP ELLER AE PODEDE MINK (ANTAL POSITIVE BLODPRØVER/ANTAL MINK I GRUPPEN) I FORHOLD TIL UGER I FORSØGET. 10 MINK FRA HENHOLDSVIS GRUPPE IP-NEG OG AE-NEG, SAMT 4 MINK FRA HENHOLDSVIS GRUPPE AE OG IP BLEV AFLIVET 2, 5 OG 10 UGER EFTER PODNING.

GRUPPE	UGE										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IP-neg, AE-neg	0/12	0/12	0/12	0/8	0/8	0/8	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
AMDV AE	0/12	0/12	0/12	0/8	4/8	4/8	3/4	3/4	4/4	4/4	4/4
AMDV IP	0/12	0/12	0/12	2/8	8/8	8/8	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4

TABEL 2 AFLIVEDE MINK MED AMDV PCR POSITIVE ORGANER I GRUPPERNE MED INTRAPERITONEALT (IP) OG AEROSOL (AE) MOCK PODEDE KONTROLLER (IP-NEG, AE-NEG), OG AMDV IP ELLER AE PODEDE MINK (ANTAL MINK MED PCR POSITIVE ORGANER/ANTAL MINK AFLIVET). PCR POSITIVE MINK HAVDE VIRUS I LEVER, LUNGE, NYRE, MILT, TARM, KRØSLYMFEKNUDE OG HJERNE. TO MINK FRA HENHOLDSVIS GRUPPE IP-NEG OG AE-NEG, SAMT 4 MINK FRA HENHOLDSVIS GRUPPE AE OG IP BLEV AFLIVET 2, 5 OG 10 UGER EFTER PODNING.

GRUPPE	UGE		
	2	5	10
IP-neg, AE-neg	0/4	0/4	0/4
AMDV AE	0*/4	2/4	4/4
AMDV IP	4/4	4/4	4/4

*INKONKLUSIVT PCR RESULTAT PÅ NYRE FRA EN MINK.

TABEL 3 AMDV POSITIVE ORGANER VED PCR UNDERSØGELSE I SENTINEL MINK I FORHOLD TIL UGER EFTER AMDV IP PODNING (ANTAL PCR POSITIVE MINK/ANTAL MINK I GRUPPEN).

UGER I RISIKO FOR SMITTE	PCR POSITIVE ORGANER						
	MILT	LEVER	LUNGE	NYRE	TARM	KRØSLYMFEKNUDE	HJERNE
0-2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
2-4	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
4-6	2/2	2/2	2/2	0/2	1/2	2/2	1/2
6-8	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2
8-10	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2

Ingen sentineller serokonverterede inden aflivning, men virus kunne påvises i alle organer hos de sentineller, der blev udsat for smitte i perioden fra 2 til 4 uger efter inokulering (tabel 3). Hos disse mink var der mest virus i lever eller milt og mindst virus i hjernen. Desuden var sentinellerne fra uge 4-6 positive for AMDV, dog kun i hhv. 4/7 og 6/7 organer, og med lavere virus mængde i forhold til sentinellerne fra uge 2-4. I denne gruppe var virus mængden højest i krøslymfeknuden og lavest i lunge eller tarm. PCR analyse af hjernevæv fra en sentinel fra uge 6-8 var inkonklusiv, der blev ikke påvist AMDV i de resterende organer fra denne mink eller den anden sentinel fra samme periode. Der blev ikke påvist virus i sentinellerne fra uge 0-2 og 8-10.

Diskussion

I alle forsøgsgrupper, både negative kontroller, AMDV podede og sentineller, blev der påvist mononukleære celleinfiltrationer i lungerne. Det er bemærkelsesværdigt, at der også fandtes omfattende forandringer i lungerne hos AMDV negative mink, inklusiv mink podet med mock. Lungereaktionen er derfor sandsynligvis en uspecifik reaktion grundet påvirkning fra miljøet (støv, luftfugtighed, ventilation). I studiet af Jensen et al. (2016) var der færre lungeforandringer hos de AMDV podede mink i forhold til i vores studie. Dette kan skyldes at der hos Jensen et al. (2016) blev anvendt en anden Sæby AMDV stamme, der kan have haft en forskellig virulens, men det kan også bero på den uspecifikke inflammation vi så i lungerne. Hvor stor

en del af lunge inflammationen i de AMDV inficerede mink i dette studie, der skyldtes selve infektionen eller denne uspecifikke reaktion, er vanskelig at vurdere. Dog blev de moderate og massive forandringer overvejende set hos de AMDV smittede mink. Således kan mononukleære celleinfiltrationer, der kan induceres af plasmacytose, også ses i lungen hos mink uden AMDV infektion, hvilket også er erfaringen fra diagnostiske indsendelser og tidligere studier (Hansen et al., 2017). Lungen er derfor ikke særlig anvendelig til histologisk diagnostik af plasmacytose hos mink. Vi så ikke højere forekomst af lungeforandringer hos de AE podede i forhold til de IP podede mink, hverken hos de negative kontroller eller de AMDV podede. Det vil sige at aerosol podningen i sig selv ikke umiddelbart giver anledning til udtalt inflammation. Overraskende nok var der heller ingen forskel på mængden af virus i lungen mellem AE- og IP podede mink, hvor vi havde forventet at finde højere AMDV niveauer i lungen hos AE podede mink – i hvert tilfælde tidligt i forsøget. Derimod blev vi bekræftet i at IP inokulation favoriserer leveren, da læsionsgraden var væsentligt større i denne gruppe i forhold til de AE podede.

Virus fordelingen i organerne var meget ensartet mellem grupperne, med lavest forekomst af AMDV i hjerne eller lunge og højest forekomst i krøslymfeknuden hos 16/18 AMDV positive mink (både AE- og IP podede, samt sentineller). Tidligt efter infektion (2 uger) fandtes dog mest virus i milt og lever hos 2/4 mink i IP gruppen, hvilket må-

ske afspejler, at efter IP podning optages virus af makrofager og lymfocytter, der blandt andet transporterer virus til disse bughuleorganer, der i kraft af deres størrelse og store blodgennemstrømning eksponeres for mange af disse virusholdige inflammationsceller.

Nogenlunde samme billede ses hos sentinellerne. Her var det dog lidt mere varieret med hensyn til hvilke organer, der indeholdt mindst henholdsvis mest virus. Alle sentineller, der blev udsat for smitte fra de IP podede mink 2-6 uger efter AMDV podning, blev inficeret, hvilket indikerer at AMDV smitterisikoen er højest tidligt i infektionen med allerhøjeste smittepotentiale i uge 2-4. Dette vurderes ud fra, at der ikke kunne påvises virus i alle organer fra sentineller, der blev inficeret i uge 4-6. Desuden havde de mindre mængde virus i organerne sammenlignet med de sentineller, der blev smittet i uge 2-4. Det betyder også under praktiske forhold, at virus har spredt sig i gården før der er målbare antistoffer i blodet hos dyrene.

Ligesom tidligere forsøg [Jensen et al., 2016], viste IP podning sig at være en sikker og effektiv model til at inducere AMDV infektion. Således blev alle IP podede mink inficeret og virus blev påvist i alle undersøgte organer. Det lykkedes at opstille en succesfuld model for AE podning af mink med AMDV ved brug af et forstøverkammer koblet til en anæstesimaske. I de tidligere anvendte "aerosol pøde-bokse" [Alexandersen, 1986; Gorham et al., 1964] er hele minken i kontakt med forstøvet inokulum og således bliver pelsen kontamineret med virus, som minken derefter kan indtage gennem munden under soignering. Anvendelsen af forstøverkammer og anæstesimaske, der kun dækker minkens mund og næse, har netop den fordel at pelsen ikke kontamineres med virus, hvilket giver en mere kontrolleret aerosol podningsmodel. Til vores kendskab er dette første gang mink er blevet succesfuldt smittet med AMDV via AE podning ved brug af en anæstesimaske og forstøverkammer.

Efter AE smitte udviklede AMDV infektionen sig gradvist og efter 2 uger havde ingen mink virus niveauer over PCR analysens detektionsgrænse, mens der efter henholdsvis 5 og 10 uger blev påvist virus hos 50% og 100% af minkene. Denne sygdomsudvikling må forventes at være tættere på forløbet af naturlig infektion i forhold til IP podning, hvor alle mink var AMDV positive allerede 2 uger efter podning. Sentinellerne repræsenterer sygdomsforløbet ved den naturlige infektion og når man sammenligner med dette, viser AE podningen sig at medføre en mere homogen virusspredning, hvor alle undersøgte organer er virus positive, hvilket ikke var tilfældet hos de smittede sentineller.

Konklusion

Det lykkedes at aerosol pøde mink med AMDV ved brug af forstøverkammer og anæstesimaske. Aerosol modellen vurderes at afspejle sygdomsudviklingen ved naturlig infektion bedre end den traditionelle intraperitoneale podning. Resultaterne fra sentineller indikerede, at risikoen for at videreføre AMDV smitte mellem mink er størst tidligt i infektionsforløbet før der normalt kan findes antistof positive dyr på gården.

Tak

Undersøgelserne blev finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden og DTU-Veterinærinstituttet. Tak til uvurderlig hjælp fra

forsøgsdyrspersonalet på Lindholm, DTU-Veterinærinstituttet og laboranterne på DTU-Veterinærinstituttet, Lyngby.

Referencer

Alexandersen, S., Larsen, S., Aasted, B., Uttenthal, A., Bloom, M.E., Hansen, M. 1994. Acute interstitial pneumonia in mink kits inoculated with defined isolates of Aleutian mink disease parvovirus. *Vet. Pathol.* 31, 216.

Alexandersen, S. 1986. Acute interstitial pneumonia in mink kits: Experimental reproduction of the disease. *Vet. Pathol.* 23, 579-588.

Dam-Tuxen, R., Dahl, J., Jensen, T.H., Dam-Tuxen, T., Struve, T., Bruun, L. 2014. Diagnosing Aleutian mink disease infection by a new fully automated ELISA or by counter current immunoelectrophoresis: a comparison of sensitivity and specificity. *J. Virol. Methods* 199, 53-60. doi:10.1016/j.jviromet.2014.01.011.

França, M., Poulson, R., Brown, J., Howerth, E.W., Berg-haus, R.D., Carter, D., Stallknecht, D., E. 2012. Effect of different routes of inoculation on infectivity and viral shedding of LPAI viruses in mallards. *Avian Dis.* 56, 981-5. doi:10.1637/10151-040812-ResNote.1.

Gorham, J.R., Leader, R.W., Henson, J.B. 1964. The Experimental Transmission of a Virus Causing Hypergammaglobulinemia in Mink: Sources and Modes of Infection. *J. Infect. Dis.* 114, 341-345.

Hansen, M.S., Krog, J. S., Hjulsager, C. K., Chriél, M., Larsen, L.E. & Kokotovic, B. 2017. Lungebetændelse hos mink med ansamlinger af mononukleære inflammationsceller. *Faglig Årsberetning 2016*, 113-119. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark. Jensen, T.H., Chriél, M., Hansen, M.S. 2016. Progression of experimental chronic Aleutian mink disease virus infection. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2016, 58, 35. DOI: 10.1186/s13028-016-0214-7.

Jensen, T.H., Christensen, L.S., Chriél, M., Uttenthal, A., Hammer, A.S. 2011. Implementation and validation of a sensitive PCR detection method in the eradication campaign against Aleutian mink disease virus. *J. Virol. Methods* 171, 81.

Nalua NA. 1991. Relevance of inoculation route to virulence of three *Salmonella* spp. strains in mice. *Microb Pathog.*, 11, 11-18.

Porter, D.D., Larsen, A.E., Porter, H.G. 1980. Aleutian disease of mink. *Adv. Immunol.* 29, 261.

Rolão N, Melo C, Campino L. 2004. Influence of the inoculation route in BALB/c mice infected by *Leishmania infantum*. *Acta Trop.*, 90, 123-126.

Ryt-Hansen, P., Hjulsager, C.K., Hagberg, E.E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A.G., Larsen, L.E. 2017. Outbreak tracking of Aleutian mink disease virus (AMDV) using partial NS1 gene sequencing. *Virol. J.* 14. doi:10.1186/s12985-017-0786-5. ✕

FORELØBIGE RESULTATER AF EN KLINISK OG PATOLOGISK UNDERSØGELSE AF BLÆREBETÆNDELSE OG URINVEJS-STEN HOS MINK (*NEOVISON VISON*)

Af Karin Mundbjerg^{1,2}, Tove Clausen³, Oliver Lykke Honoré², Caroline Berner², Morten Thorstensen², Ida Sebbelov⁴ og Anne Sofie Hammer².

¹ LVK Dyrlægerne A/S, Fynsvej 8, 9500 Hobro, Denmark

² Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, Ridebanevej 3, 1870 Frederiksberg C, Denmark.

³ København Farm, Herningvej 112C, 7500 Holstebro, Denmark

⁴ Institut for Matematiske Fag, Københavns Universitet, Universitetsparken 5, 2100 København Ø, Denmark

Sammendrag

Formålet med dette pilotstudie var at evaluere urinanalyse som indikator for læsioner i urinvejene hos opdrættede minkhvalpe med blærebetændelse og blæresten. Især vurderes en sådan metode at være relevant i forbindelse med undersøgelser af effekten af forskellige forebyggende og behandlingsmæssige tiltag på farme der har problemer med urinvejslidelser. Samtidig kan metoden anvendes til at undersøge omfanget af subkliniske urinvejsinfektioner (infektioner uden symptomer), med henblik på at vurdere relevansen af flokbehandling. Urinprøver (n= 240) blev opsamlet ved spontan uriner. Efter urinanalyse blev 2 case-grupper (n=18/14) og en kontrolgruppe (n=12) udvalgt. Dyrene blev udvalgt på baggrund af urinanalyse data. Dyrene i case- og kontrolgrupper blev aflivet og undersøgt ved obduktion. Alle læsioner forenelige med blærebetændelse og urinsten, der kunne påvises ved obduktion (makroskopiske læsioner) blev registreret. Læsioner i urinvejsorganer blev registreret i 7 dyr. For 6 af disse dyr viste urinanalyser fund af struvitkrystaller i kombination med fund af røde blodlegemer, pH > 6,6, misfarvet urin og/eller nitrit. Der blev ikke påvist læsioner ved obduktion af kontroldyr. Konklusivt tyder resultaterne på, at urinanalyse kan være en nyttig metode til at identificere minkhvalpe med læsioner i relation til urinvejene, men at flere parametre, herunder urinens farve, nitrit, pH og tilstedeværelsen af struvitkrystaller bør vurderes samlet. Betydningen af røde blodlegemer og protein i minkhvalpes urin bør evalueres nærmere.

Mundbjerg, K., Clausen, T, Honoré, O.L., Berner, C., Thorstensen, M., Sebbelov & Hammer, A.S. 2019. Foreløbige resultater af en klinisk samt patologisk undersøgelse af blærebetændelse og urinvejssten hos mink (neovison vision). Faglig Årsberetning 2018, 108-112. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: blærebetændelse, urinsten, urinprøveanalyse, struvit

Abstract

The objective of this pilot study was to evaluate urine sample analysis as predictors of gross lesions in the urinary tract of farm mink kits with cystitis and urolithiasis. Urine samples (n=240) were collected by spontaneous micturition. The method is relevant for studies of the efficacy of prophylactic and treatment protocols on farms with urinary tract disease. Also the method could potentially provide information of the prevalence of subclinical (without symptoms) urinary infections and thereby provide information concerning the relevance of flock treatments. Based on urine analysis data two case groups (n=18/14) and one control group (n=12) of animals were selected. The case and control animals were euthanized and examined by necropsy. Lesions associated with cystitis and urolithiasis were recorded. Gross pathological findings were recorded in 7 animals. 6 of these were case animals identified by presence of struvite crystals in combination with erythrocytes, pH > 6.6, discolored urine and/or positive nitrite. No gross pathological findings were found in the control animals. In conclusion, urine analysis appeared to be a useful method for the identification of mink kits with gross lesions in the urinary tract, but also that urine color, nitrite, pH and the presence of struvite crystals should be evaluated in combination. The consequence of red bloodcells and protein in the urine of mink kits should be evaluated further.

Mundbjerg, K., Clausen, T, Honoré, O.L., Berner, C., Thorstensen, M., Sebbelov & Hammer, A.S. 2019. Preliminary results of clinical and gross pathological studies of cystitis and urolithiasis in farm mink (Neovison vision). Annual Report 2018, 108-112. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Cystitis, Urinary stones, urine sample analyses, struvite

Introduktion

Obduktionsundersøgelser af minkhvalpe i vækstsæsonen (perioden fra fravæning til pelstid) har vist, at urinvejslidelser som blærebetændelse og urinvejssten er blandt de hyppigste årsager til dødelighed på danske minkgårde (Rattenborg et al. 1999, Clausen 2010). En feltundersøgelse udført i 2015-2016 viste, at for op mod 33 % af hvalpe, der dør i vækstsæsonen, kan dødsårsagen relateres til urinvejslidelser (Mundbjerg 2017). Tidligere undersøgelser tyder på at dødsfald som følge af urinvejslidelser forekommer fra slutningen af juni måned, og er en hyppig dødsårsag hos minkhvalpe i juli måned (Clausen 2010, Mundbjerg et al. 2018).

Hos mink optræder blærebetændelse og urinvejssten tilsyneladende ofte samtidig, og ved undersøgelse af urinvejssten fra mink er urinsten og krystaller oftest beskrevet at være af typen struvit (Nielsen 1956, Sompolinsky 1950, Konrád et al. 1973, Witte & Zimmermann 1985). Struvit urinvejssten er farveløse og består primært af ammonium, magnesium og fosfatkomponenter. Det kræver en urin pH på eller over 7,0, for at struvitkrystaller kan udfældes, og disse kan opløses igen ved urin pH under 6,6 (Case 2011). Nyere studier har fundet, at bakterien *Staphylococcus delphini* gruppe A er associeret med blærebetændelse hos mink (Guardabassi et al. 2012, Mundbjerg et al. 2018).

Tidligere studier i urinvejslidelser hos mink er baseret på obduktionsundersøgelser (Clausen 2010, Guardabassi et al. 2012, Mundbjerg 2017, Mundbjerg et al. 2018), hvorimod de kliniske parametre, som urinanalyse med multistix og sediment analyse stadig ikke er undersøgt. Formålet med studiet er generelt at undersøge urinparametre som pH, vægtfylde og forekomsten af urinkrystaller, røde blodlegemer og protein i urinen hos omtrentlig 2 måneder gamle minkhvalpe, samt at undersøge om specifikke kliniske parametre i forbindelse med urinundersøgelse kan sammenholdes med patologiske fund af urinvejene hos minkhvalpe. To timepoints blev inkluderet med henblik på at vurdere om der sker en PH ændring i urinen i løbet af perioden, som kan forklare at der ses en stigning i dødsfald som følge af urinvejslidelser.

Materiale og metoder

Urinprøver blev tilfældigt udtaget fra i alt 240 minkhvalpe af typen brun med den omtrentlige alder af 2 måneder. Der blev samlet 120 urinprøver på hver 2 prøveudtagningsdage (dag 1 og dag 2) med 11 dages mellemrum. Prøverne blev opsamlet ved spontant urinering. Alle hvalpe, der leverede urinprøve, blev chipmærket. Urinanalysen blev udført straks efter prøveindsamlingen. Først med en visuel vurdering af urinprøvens farve efterfulgt af pH-måling med pH-meter (Mettler Toledo Seven2Go pro), bestemmelse af vægtfylde med refraktometer (resultater ikke medtaget) samt analyse med Multistix 10 SG.

Efter centrifugering (8 min, 4000 U/min) af prøven kunne sedimentdelen (bundfaldet) af urinprøven opsamles. Sedimentet blev holdt på køl indtil analyse under mikroskop (ved 200 x forstørrelse) dagen efter urinprøveopsamlingen. Her blev tilstedeværelse af røde blodceller (blod) og krystaller samt typen af eventuelle krystaller bestemt. Resultaterne af urinanalysen blev efterfølgende brugt til at danne 2 case-grupper og en kontrolgruppe af minkhvalpe.

Case gruppe 1 (n=18) omfattede 9 dyr fra hver testdag, hvis urinprøver indeholdt stuvitkrystaller og/eller havde røde blodlegemer (registreret ved sedimentanalysen), urin pH>6,6, misfarvet urin eller havde urin, der var positiv for indhold af nitrit. Case gruppe 2 (n=14) omfattede henholdsvis 8 og 6 dyr fra hver prøveudtagningsdag, som havde blod i urinen fundet ved sedimentanalysen (uden fund af krystaller). Der blev valgt 2 case-grupper, idet vi gerne ville undersøge om minkhvalpe med blod i urinen uden fund af krystaller eller andre unormale kliniske fund i urinprøven havde andre patologiske forandringer end minkhvalpe med krystaller i urinen.

Kontrolgruppen (n=12) bestod af 6 dyr fra hver prøveudtagningsdag uden fund af hverken røde blodlegemer eller krystaller i urinen. Dertil var urinprøver fra kontrol dyr negative for indhold af nitrit.

Tre dage efter hver prøveindsamling blev dyrene i de tre grupper aflivet og undersøgt ved obduktion. De resterende dyr (n=196) blev fulgt til pelstid, og alle mink, der døde eller blev aflivet, blev obduceret med henblik på at påvise eventuel forekomst af urinvejslidelse.

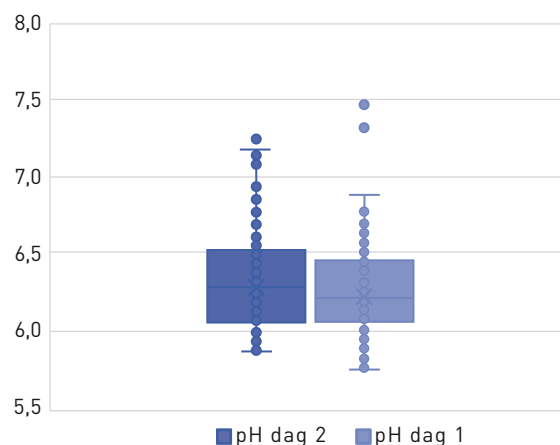
Ved obduktion blev urinvejene undersøgt med notering af følgende makroskopiske forandringer: Blærevæggens udseende blev bedømt og eventuelle blødninger samt fortykkelse blev registreret. Desuden blev det registreret, om der var obstruktion af blæren. Eventuelt indhold af blod, pus og sten i blæren blev registreret. Nyrener blev blotlagt, udtaget, gennemskåret og undersøgt for læsioner, herunder cyster, blødninger, hydronefroze (sæknyre), nephritis (nyrebetændelse) og nephrolithiasis (nyresten). Ved fund af en eller flere af ovenstående forandringer blev minkhvalpen klassificeret som havende læsioner forenelige med urinvejslidelse.

Resultater

Resultater af urinanalyse

Udvalgte analyseresultater fra begge prøveudtagningsdage er vist i figur 1 samt tabel 1 og 2.

Figur 1 boxplots af pH målinger af alle urinprøverne fordelt på de to prøveudtagningsdage. Ved anvendelse af en uparret t-test på et 95 % signifikansniveau blev der ikke påvist signifikant forskel på den gennemsnitlige urin pH (p=0.46) mellem de to prøveudtagningsdage.



FIGUR 1: BOXPLOT AF URIN PH PÅ PRØVEUDTAGNINGSDAG 1 (PH DAG 1) OG 2 (PH DAG 2)

TABEL 1 OPSUMMEREDE RESULTATER AF UDVALGTE PARAMETER FRA MULTISTIX- OG SEDIMENTUNDERSØGELSE FRA PRØVE-UDTAGNINGSDAG 1 (DAG 1) OG 2 (DAG 2).

	URIN-PRØVER HAN-HVALPE (N)	URIN-PRØVER HUN-HVALPE (N)	NITRIT POSITIVE (N)	PROTEIN = 1+ (N)	MISFARVET URIN (N)	STRUVIT KRYSTALLER (N)	RØDE BLOD-LEGEMER (N)
Dag 1	72	48	3	91	1	42	29
Dag 2	68	52	3	103	3	49	28

UMIDDELBART HAVDE FLERE HAN- END HUNHVALPE KRYSTALLER I URINEN PÅ DAG 1 END DAG 2, HVORIMOD DET MODSATTE BLEV FUNDET PÅ DAG 2 (TABEL 2). VED BRUG AF FISHERS EXACT TEST (95 % SIGNIFIKANSNIVEAU) BLEV DER DOG IKKE PÅVIST SIGNIFIKANT FORSKEL I FOREKOMSTEN AF STRUVITKRYSTALLER I URINEN HOS HAN- OG HUNHVALPE PÅ HVERKEN DAG 1 (P=0.56) ELLER DAG 2 (P=0.58).

TABEL 2 FORDELING AF HUN- OG HANHVALPE MED STRUVITKRYSTALLER I URINEN FORDELT PÅ PRØVEUDTAGNINGSDAG 1 (DAG 1) OG 2 (DAG 2).

DAG 1:	HUNHVALPE	HANHVALPE
Struvit positiv	31 %	38 %
Struvit negativ	69 %	62 %
DAG 2:		
Struvit positiv	44 %	38 %
Struvit negativ	56 %	62 %

TABEL 3 ANTALLET AF DYR MED LÆSIONER I URINVEJENE FORENELIGE MED BLÆREBETÆNDELSE OG/ELLER URINVEJSSTEN FRA PRØVEUDTAGNINGSDAG 1 (DAG 1) OG -DAG 2 (DAG 2) SAMT ANTALLET AF DYR FRA HVER DAG MED PH>6,6, NITRAT POSITIV, PROTEIN>+1, MISFARVET URIN OG STRUVITKRYSTALLER.

	MINKHVALPE MED LÆSIONER (N)	PH>6,6	NITRIT POSITIVE (N)	PROTEIN = 1+ (N)	MISFARVET URIN (N)	STRUVIT KRYSTALLER (N)
Dag 1	3	2	2	2	1	2
Dag 2	4	3	3	3	3	4

TO MÅNEDER EFTER URINPRØVEUDTAGNING DØDE ÉN AF DE CHIPMÆRKEDE HVALPE SPONTANT AF URINVEJSLIDELSE. DENNE HVALP VAR DEN ENESTE AF DE 240 HVALPE, HVORFRA DER BLEV UDTAGET URINPRØVE, SOM EFTERFØLGENDE SPONTANT DØDE AF URINVEJSLIDELSE.

I tabel 3 ses udvalgte opsummerede resultater fra multistix- og sedimentundersøgelse af urinprøverne

Obduktionsresultater

I kontrolgruppen (n=12) fandtes ved obduktion ingen synlige læsioner i urinvejene forenelige med blærebetændelse eller urinvejssten. Fra dag 1 og dag 2 blev der fundet patologiske fund relateret til blærebetændelse og/eller cystitis i henholdsvis 2 og 4 af dyrene tilhørende case-gruppe 1. (n=18), se tabel 3. En minkhvalp fra dag 1 samt tilhørende case-gruppe 2 (n=14) havde patologiske læsioner i urinvejene.

Statistiske resultater af obduktionsfund testet mod udvalgte parametre af Multistix 10 SG og sediment analyse:

Ved brug af Fisher's Exact test blev Multistix 10 SG parametrene nitrit, hæmoglobin og protein målt i urinprøver fra minkhvalpe med og uden patologiske læsioner i urinvejene forenelige med blærebetændelse og/eller

urinvejssten testet på et på et 95 % signifikansniveau. Fra dag 1 blev parameteren nitrit (p=0,034) fundet signifikant forskellig i de 2 grupper af minkhvalpe (med og uden læsioner), mens resultater fra dag 2 viste protein (p=0,006) til at være signifikant forskellig.

Parametrene farve/misfarvning af urinprøve, fund af røde blodlegemer eller krystaller i sedimentundersøgelsen samt urinvægtfylde målt med refraktometer blev ligeledes testet mellem minkhvalpe med og uden patologiske læsioner i urinvejene forenelige med blærebetændelse og/eller urinvejssten testet på et på et 95 % signifikansniveau med Fisher's exact test. Fra dag 1 blev ingen signifikant forskel fundet mellem grupperne (med og uden læsioner) i de omtalte parametre, men fra dag 2 var fund af struvitkrystaller signifikant forskellig (p=0,021).

Hverken på dag 1 (p=0,254) eller dag 2 (p=0,409) blev pH (ved brug af Mann-Whitney U test på et 95 % signifikant niveau) fundet forskellig i minkhvalpe med og uden læsioner.

Diskussion:

På figur 1 ses, at der er stor spredning af pH i de 240 urinprøver. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel på pH dag 1 sammenlignet med dag 2. Struvitkrystaller dannes ved basisk pH i urinen (Case 2011) og dødsfald relateret til urinvejslidelser forekommer især i juli måned (Clausen 2010, Mundbjerg et al. 2018), derfor ønskede vi at undersøge om der i denne periode kunne påvises en stigning i urin pH hos minkhvalpene og således en stigning mellem de 2 test-dage. En eventuel stigning i pH kunne bidrage til at forklare at der i denne periode ses en stigning i dødsfald relateret til urinsvejslidelser.

I denne undersøgelse var det ikke muligt at påvise en stigning i urin pH mellem testdagene. Det er i denne sammenhæng vigtigt at pointere, at urin pH hos mink er vist afhængigt af foderindtag (Clausen & Wamberg 1998), hvormed urin pH må kunne forventes af ændres i forhold til tidspunkt for foderindtag. Dyrene er ikke fastet i dette forsøg inden prøveudtagning, og urin pH hos det enkelte dyr kan derfor være påvirket af fodringstidspunkter og foderindtag.

I dette studie havde 5 ud af de 7 dyr med læsioner urin pH >6,6, dog kunne urin pH ikke vises signifikant forskelligt mellem dyr med og uden læsioner i urinvejene.

Nitrit i urinen blev testet med multistix og er en interessant parameter, da nitrit bliver produceret af bakterier med evnen til at reducere nitrat til nitrit (Villiers et al. 2016). Bakterien *Staphylococcus delphini* gruppe A er fundet i relation til blærebetændelse hos mink (Guardabassi et al. 2012, Mundbjerg et al. 2018) og kan netop reducere nitrat (Varaldo et al. 1988). Fund af nitrit i urinen med multistix bliver anset som en upålidelig parameter ved urinundersøgelse hos kat og hund, da urinen skal være tilstede i blæren i 4 timer for at sikre et positivt resultat (Villiers et al. 2016). I dette studie var fund af nitrit i urinen signifikant forskelligt mellem dyr med og uden læsioner i relation til urinvejene på dag 1, dog ikke genfundet på dag 2. Forklaringen kan simpelt være, at med blot 3 dyr med urinvejslidelser bliver stikprøven for lille til, at der er sikkerhed i beregningerne. I alt havde 5 ud af 7 dyr med urinvejslæsnioner dog nitrit i urinen. Altså vil fund af nitrit i urinen være en god indikator for urinvejsinfektion hos en minkhvalp, hvorimod en negativt nitrit-test ikke kan tolkes som, at dyret er fri for infektion.

I tabel 1 ses, at 194 urinprøver (n=240) ved brug af Multistix 10 SG blev fundet positive for protein med resultatet 1+. De mange positive prøver kan være indikation på, at protein i urinen er et normalfund hos mink, som det også anses for at være det hos katte (Villiers et al. 2016). På dag 2 var fund af protein signifikant forskellig mellem minkhvalpe med og uden læsioner forenelige med urinvejslidelser, hvilket kan skyldes at protein i urinen opstår som følge af inflammation (Villiers et al. 2016).

Sammenholdes tabel 1 og 3 ses, at alle dyr med misfarvet urin (n=4) også blev fundet til at have læsioner i relation til urinvejene. Misfarvet urin opstår oftest som følge af blod i urinen (Villiers et al. 2016) og virker ud fra disse resultater som en solid indikator for urinvejslidelser hos mink. Vi fandt en signifikant forskel i forekomsten af struvitkrystaller i urinen på dag 2 mellem minkhvalpe med og uden læsioner i urinvejene. Denne forskel kan være en følge af

udvælgelseskriterierne for hvalpene i case og kontrolgrupperne. Både kontrolgruppen og case gruppe 2 blev valgt på baggrund af, at de ikke havde krystaller i urinen, hvorimod case gruppe 1 blev valgt, fordi de netop havde krystaller i urinen. Alle hvalpe med læsioner i urinvejene havde dog krystaller i urinen på nær én.

Røde blodlegemer i sedimentundersøgelsen var også et hyppigt fund i dette studie (57 ud af 240 urinprøver var positive). Ved undersøgelse af urin fra kat og hund vurderes mindre mængder røde blodlegeme som værende et normalfund (Villiers et al. 2016). Dette kan også være tilfældet for minkurin. Røde blodlegemer i urinen er ikke umiddelbart god indikator for urinvejslidelser.

Kun en minkhvalp fra dette studie døde spontant mellem sidste prøveudtagning og 1. november (2 måneder efter urinprøveudtagning) af urinvejslidelser (n=196), hvilket tyder på, at det var muligt at identificere de syge minkhvalpe med urinprøverne. Det lave dødelighed grundet blærebetændelse og/eller urinvejssten i de resterende 196 minkhvalpe fra sidste prøveudtagning og til 1. november er en god indikation på, at vi ved urinprøveundersøgelsen ikke har overset subkliniske infektioner af betydning.

Konklusion

Resultaterne af dette studie indikerer at pH i urin fra minkhvalpe har stor spredning. Dertil tyder resultaterne på, at parametrene urinfarve, pH samt tilstedeværelse af struvitkrystaller og nitrit i urinen hos mink skal vurderes i kombination, hvis urinundersøgelse skal benyttes til at identificere minkhvalpe med urinvejslidelser.

Perspektivering

Yderligere undersøgelser af minkhvalpes urin – gerne på forskellige alderstidspunkter og fra flere farme – er nødvendige for at fastslå om røde blodlegemer, protein og struvitkrystaller er normalfund i urinen hos minkhvalpe generelt. Dette er et nødvendigt grundlag for at anvende disse parametre som et diagnostisk værktøj. Yderligere urinalyser vurderes at være særdeles relevant i forhold til at anslå prævalensen af subklinisk (uden symptomer) urinvejsinfektioner på minkfarme. Dette er relevant i forbindelse med vurdering af, hvordan antimikrobiel behandling anvendes mest hensigtsmæssigt ved udbrud. Som diagnostisk værktøj i dyrlægepraksis bør urinprøver hos mink tillige undersøges nærmere, inden det kan benyttes rutinemæssigt, da man bør kende normale fund inden det unormale kan genkendes.

Referencer:

- Case, L. Canine and feline nutrition. 2011. 3rd edition. Elsevier. 359-380.
- Clausen, T. & Wamberg, S. 1998. Ændringer i urin-pH hos minkhvalpe (7-9 uger gamle) ved forskellig fodring. *Faglig Årsberetning* 1997. 45-49.
- Clausen, T. N. 2010. Dødsårsager fra fødsel til 1. august. *Faglig Årsberetning* 2009, 97-103.
- Guardabassi L, Schmidt K.R., Petersen T.S., Espinosa-Gongora C, Moodley A, Agersø Y & Olsen J.E. 2012. *Mustelidae* are natural hosts of *Staphylococcus delphini* group A. *Veterinary Microbiology* 12, 159 (3-4), 351-353.

Konrád, J., Hanák, J. & Mouka, J. 1973. Clinical and etiological aspects of urolithiasis in minks (*Lutreola vison*). *Veterinari Medicina*. 18, 533–540.

Mundbjerg, K. 2017. Hvad dør mink af? *Dansk Pelsdyrblad*, 4, 38–40.

Mundbjerg, K., Pedersen, P.E., Honoré, O.L. Foged, F., Berner, C., Jakobsen A., Sebbelov, I., Tolver A. & Hammer, A.S. 2018. Foreløbige resultater af patologiske og mikrobiologiske undersøgelser af minkhvalpe med blærebetændelse og urinvejssten. *Faglig årsberetning 2017*, 123–27.

Nielsen, I. M. 1956. Urolithiasis in mink: pathology, bacteriology and experimental production. *The Journal of Urology*. 75, 602–614.

Rattenborg, E., Dietz, H. H., Andersen, T. H. & Møller, S. H. 1999. Mortality in farmed mink: systematic collection versus arbitrary submissions for diagnostic investigation. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 40, 307–314.

Sompolinsky, D. 1950. Urolithiasis in mink. *The Cornell Veterinarian*. 40, 367–377.

Varaldo, P.E., Kilpper-Balz, R., Biavasco, F., Satta, G. & Schleifer, K.H. 1988. *Staphylococcus delphini* sp. Nov., a Coagulase-Positive Species Isolated from Dolphins. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 38 (4), 436–439.

Villiers, E., Ristic, J., & Blackwood, L. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 2016. 3rd edition. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester. 183–218.

Weiss, V., Clausen, T., Hansen, M.U. & Henriksen, A.M. 2005 Undersøgelse af urinens pH og urinvejslidelser hos minkhvalpe i juni og juli måned. *Faglig Årsberetning 2004*. 215–222.

Witte, W. & Zimmermann, H. 1985. *Staphylococcus intermedius* in urolithiasis of mink. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 39, 560–564. ✕



Sundhed og Sygdom

IMMUNOLOGISK RESPONS MOD MINK ASTROVIRUS

Af Ronja Mathiesen¹, Lise Kirstine Kvisgaard², Mariann Chriél³, Tina Struve⁴ & Peter M. H. Heegaard¹

¹ Institut for Bioteknologi og Biomedicin, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet Bygning 204, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark

² Afdeling for Diagnostik & Beredskab - Virologi, Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet Bygning 204, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark

³ Afdeling for Diagnostik & Beredskab - Diagnostik & Udvikling, Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet Bygning 204, 2800 Kgs. Lyngby, Danmark

⁴ Copenhagen Fur, Langagervej 60, 2600 Glostrup, Danmark

Sammendrag

Mink astrovirus er en risikofaktor associeret med diarré i diegivningsperioden i daglig tale kaldet "fedtede hvalpe", et syndrom som omfatter kliniske symptomer såsom diarré, fedtet hud og dehydrering hvilket kan føre til øget dødelighed på minkgården. Formålet med studiet var at undersøge det specifikke immunologiske respons i form af virus-specifikt immunoglobulin G (IgG) hos hunner og raske hvalpe og sammenligne responset med hvalpe med diarré. Der blev i alt taget prøver fra 100 hunner og deres afkom fra to gårde (en kontrol gård og en case gård med udbrud af diarré) på Sjælland. Blodprøverne blev analyseret for tilstedeværelsen af mink astrovirus-specifikt IgG hos både hunner og hvalpe. Mælkeprøver fra 20 hunner der blev malket 2 gange blev også analyseret for tilstedeværelsen af mink astrovirus-specifikt IgG. Resultaterne viser, at der ikke var noget immunologisk respons mod mink astrovirus hos hunnerne eller hos hvalpene om de så var raske eller havde diarré. Dette indikerer at specifikke antistoffer mod mink astrovirus ikke er associeret med diarré i diegivningsperioden, dvs. astrovirus er ikke involveret, eller at den mink astrovirus stamme som findes på minkgården inducerer IgG med en anden specificitet end det mink astrovirus antigen der blev brugt i dette studie.

Mathiesen, R., Kvisgaard, L.K., Chriél, M., Struve, T. & Heegaard, P.M.H. 2019. Immunologisk respons mod mink astrovirus. *Faglig Årsberetning* 2018, 113-116. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: diarre i diegivningsperioden, Immunoglobulin G, kapsidprotein, mink astrovirus

Abstract

Mink astrovirus is a risk factor associated with pre-weaning diarrhoea (PWD), a syndrome characterized by clinical symptoms such as diarrhoea, greasy skin, and dehydration which might cause an increase in mortality on the mink farm. The purpose of the study was to investigate the specific immunological response in the form of virus-specific immunoglobulin G (IgG) in females and healthy kits and compare the response to PWD-affected mink kits. 100 females and their offspring were sampled from two farms

(a control farm and a case farm with outbreaks of PWD) in Zealand. Blood samples were analyzed for the presence of mink astrovirus-specific IgG in both females and kits. Milk samples from 20 females, which were milked twice, were also analyzed for the presence of mink astrovirus-specific IgG. The results show that there is no immunological response towards mink astrovirus in neither females nor kits, irrespectively of their PWD status. This indicates that specific antibodies to mink astrovirus are not associated with the PWD syndrome, i.e. astrovirus is not involved, or the mink astrovirus strain found on the mink farm induces the production of IgG with another specificity that does not react with the astrovirus antigen used in this study.

Mathiesen, R., Kvisgaard, L.K., Chriél, M., Struve, T. & Heegaard, P.M.H. 2019. Immunological response against mink astrovirus. *Annual Report 2018*, 113-116. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Immunoglobulin G, capsid protein, mink astrovirus, pre-weaning diarrhoea

Introduktion

Diarré hos minkhvalpe (*Neovison vison*) i diegivningsperioden påvirker stadig hvalpe på minkgårde verden over selvom det har været kendt i mere end 60 år (Svennekjær, 1954). Hele kullet bliver påvirket og hvalpene udviser de klassiske kliniske symptomer såsom; kraftig sekretion i deres nakkeregion hvilket giver et bølget hårlag, rød og hævet perianal region, hvid/gullig diarre og dehydrering (Henriksen, 1987; Olesen, Hansen & Clausen, 1992; Clausen & Dietz, 2004a; Birch et al., 2018). Omfanget af udbruddet af diarré i diegivningsperioden varierer mellem gårde (Hillemann, 1996) og nogle gårde kan være påvirket et år og være helt fri for diarre i diegivningsperioden det næste år (Olesen, Hansen & Clausen, 1992; Chriél, 1997). Diarré i diegivningsperioden ses når hvalpene er 5-20 dage gamle og syndromet har en morbiditet på 5-30 % af alle kuld på en gård og en dødelighed på 1-2 hvalpe/kuld (Henriksen, 1987; Olesen, Hansen & Clausen, 1992; Clausen & Dietz, 2004b). Diarré i diegivningsperioden anses som multifaktoriel og uden kendt specifik årsag (Englund et al., 2002; Clausen & Dietz, 2004a; Hansen et al., 2014). Adskillige undersøgelser er allerede blevet gennemført

for at dokumentere en mulig sammenhæng mellem forekomsten af virus og bakterier og diarré i diegivningsperioden, men der er en mangel på sammenhæng, da mikroorganismer bliver isoleret fra både raske hvalpe og hvalpe med diarré (Dietz & Rattenborg, 1996; Jørgensen, Scheutz & Strandbygaard, 1996; Vulfson et al., 2001, 2003; Guardabassi et al., 2012). Et tidligere studie har bekræftet at astrovirus er en risiko faktor for at udvikle diarré i diegivningsperioden (Englund et al., 2002). Overfladeprotein hos mink astrovirus (MiAstV), det såkaldte kapsidprotein, er det protein der fremprovokerer et immunrespons, hvilket resulterer i produktionen af immunoglobulin G (IgG) (Bidokhti et al., 2013). Formålet med dette studie var at undersøge IgG specifikke for kapsidprotein i serum og mælk hos hunnerne og i serum hos både raske og hvalpe med diarré for at undersøge om disse kunne have en betydning for udviklingen af diarré i diegivningsperioden.

Materiale og metoder

Dyr

Hundrede førsteårs minkhunner og deres hvalpe blev udvalgt fra 2 sjællandske minkgårde i 2017. På case gården sås der diarré i diegivningsperioden i 56 % ud af de 50 udvalgte kuld da hvalpene var henholdsvis 13 og 15 dage gamle (13-15). På kontrol gården var ingen af de 50 kuld påvirket af diarré i diegivningsperioden. Hunner med en kuldstørrelse på 6-9 hvalpe blev valgt tilfældigt af gårdejerer.

Prøvetagning

En blodprøve blev taget fra alle 100 ($n=50$ på hver gård) mink hunner da deres hvalpe var 1 dag gammel og 10 hunner ud af de 50 på hver gård blev malket da hvalpene var 5 og 7 dage gamle. To hvalpe fra hvert kuld ($n=100/\text{gård}$) fik taget blod da de var 13-15 dage gamle. Blodet blev centrifugeret ved 4000 G i 15 minutter ved 4 °C for at separere serum og plasma. Serum blev opsamlet og opbevaret ved -20 °C.

Ekspression af MiAstV kapsid proteinet i *E.coli*

MiAstV-stammen der blev anvendt i dette studie har GenBank accession nr. AY179509 og virusets kapsidprotein (CP) blev kodet fra open reading frame 2 (ORF2) (Mittelholzer et al., 2003). ORF2 blev syntetiseret og klonet ind i en ekspressionsvektor (pET303/CT-His) hos GeneArt® (Thermo Fisher Scientific). For at muliggøre en efterfølgende oprensning af det udtrykte kapsidprotein valgtes en ekspressionsvektor med en histidinmarkør. Ekspressionsklonen (pMiAstV-ORF2) modtaget fra GeneArt® var transformeret ind i *E.coli* stammen K12 DH10B™, en stamme der kun er til at opretholde klonen og ikke til proteinekspression. Det var derfor nødvendigt at transformere klonen ind i en *E. coli* stamme optimeret til ekspression af rekombinante proteiner.

Fra en glycerolstock blev en lille mængde af *E. coli* (K12 DH10B™) transformeret med pMiAstV-ORF2 udstrøget på en Luria Bertani (LB) agar plade med 100 µg/ml ampicillin og inkuberet natten over (ON) ved 37°C. Herefter blev en koloni udvalgt og dyrket op i LB medie tilsat 100 µg/ml ampicillin ved 37°C, ved omrystning (225 rpm), ON. pMiAstV-ORF2 blev isoleret fra kulturen ved anvendelse af GeneJET Plasmid Miniprep kittet (K0502, Thermo Fisher Scientific) efter producentens anvisninger. Det oprensede pMiAstV-ORF2 blev efterfølgende transformeret ind i *E. coli* stammen BL21 Star™ (DE3) (C601002, Thermo

Fisher Scientific) efter producentens anvisninger. BL21 Star™ (DE3) er optimeret for ekspression af rekombinante proteiner. For at udtrykke CP blev en koloni fra transformationspladen dyrket op i LB medie tilsat 100 µg/ml ampicillin, 37 °C, ved omrystning (225 rpm), ON. Herefter blev kulturen fortyndet til $OD_{600nm} = 0,01$ og dyrket op til $OD_{600nm} = 0,04$ ved 37 °C, ved omrystning (225 rpm), hvorefter kulturen blev induceret med Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG, I6758, Sigma Aldrich) til en slutkoncentration på 0,5 mM. Efter 4 timers induktion blev kulturen centrifugeret ved 2790 x g i 20 min og bakteriepelleten blev herefter opbevaret ved -20 °C til senere brug. Bakteriepelleten blev lyseret med lyseringsbuffer fra TaKaRa (635625, xTractor™ buffer) og en cocktail af protease-hæmmere (87785) og lysozyme (89833) fra Thermo Fisher Scientific. Bakteriepelleten blev opløst i lyseringsbuffer ved pipettering og vortexing og derefter tilsat DNase I (AMPD1-1kt, Sigma Aldrich) og inkuberet på is i 20 min. Herefter blev lysatet sonikeret på is på en Soniprep 150 (Sanyo) af 5 cyklusser af 9 sekunder puls og 9 sekunder pause og derefter centrifugeret (2790xg, 20 min, 4 °C) hvorefter supernatanten blev isoleret og filtreret igennem et 0,45 µm filter.

Protein oprensning

Fra supernatanten blev CP mærket med en histidinmarkør oprenset på en nikkel-kolonne (339350, Sigma Aldrich) og alt bundet CP-protein blev elueret med 300 mM imidazole i henhold til producentens instruktioner. Renheden af de eluerede CP fraktioner blev analyseret ved hjælp af SDS-PAGE på NuPAGE 10 % Bis-Tris geler og visualiseret ved sølvfarvning. Immunoblotting anti-His-HRP (Milenyi Biotec, 130-092-783) og Pierce ECL WB substrat kit (32209) blev brugt for at visualisere tilstedeværelsen af CP mærket med His i fraktionerne.

Analyse af anti-mink astrovirus IgG i mink serum og mælk

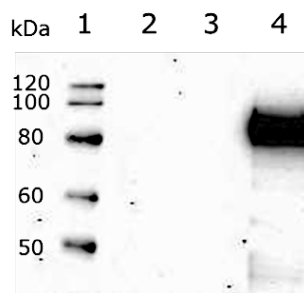
Koncentrationen af specifikke IgG for mink astrovirus i blodprøverne og mælkeprøver blev testet ved anvendelse af en indirekte enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) metode udviklet af Bidokhti et al. (Bidokhti et al., 2013). En 96-brønds ELISA plade blev coated med det oprensede fuldlængde kapsid protein fra MiAstV udtrykt i *E.coli*, fortyndet i 0,05 M carbonat buffer (pH 9,6) og inkuberet ved 4 °C natten over. Pladen blev vasket med vaskebuffer PBST (PBS med 0,05 % Tween 20) og brøndene blev blokeret en time ved stuetemperatur under omrystning med blokeringsbuffer (PBS/Tween 20, 5 % skummetmælk). Efter endnu en vask blev prøverne fortyndet i blokeringsbuffer og inkuberet under omrystning ved stuetemperatur i en time. Ged anti-fritte IgG mærket med horseradish peroxidase (HRP) blev fortyndet i blokeringsbuffer, tilsat brøndene efter endnu en vask og herefter inkuberet i en time ved stuetemperatur under omrystning. Substratopløsningen (tetramethylbenzidine plus) blev tilsat til brøndene efter endnu en vask og reaktionen blev stoppet ved tilsætning af 0,5 M H₂SO₄. Den optiske densitet (OD) blev aflæst ved 450 nm, og uspecifik baggrund blev subtraheret ved 650 nm under anvendelse af en automatisk ELISA mikroplade-aflæser. Alle prøver blev analyseret i dubletter og deres koncentrationer blev beregnet ud fra aflæsninger på standard kurven (ved hjælp af Ascent software v. 2.6, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). To serumprøver taget fra en voksen mink før og efter immunisering

med kapsidproteinet adjuveret med Freund's komplette adjuvans blev brugt som henholdsvis negativ og positiv kontrol (Fra studiet af Bidokhti et al., 2013 og doneret af Karin Ullman). Alle de ukendte prøvers OD-værdier fik middel OD-værdien af den negative kontrol subtraheret.

Resultater

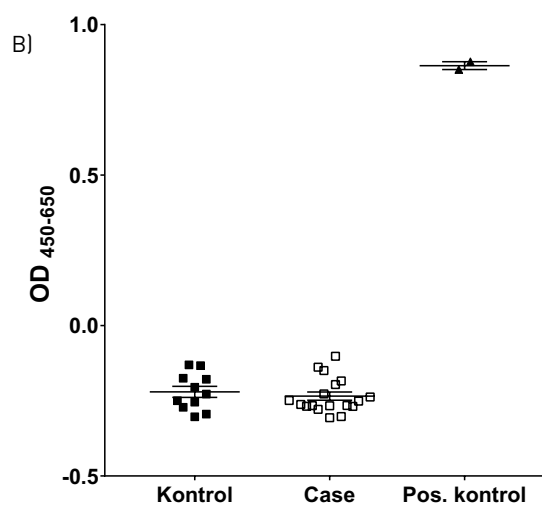
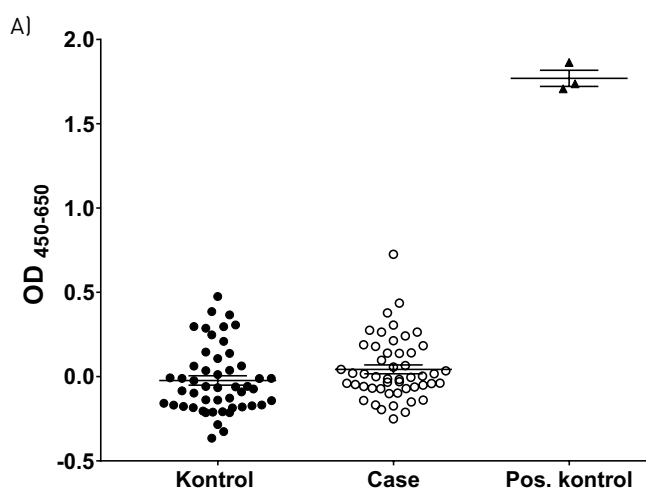
Ekspression og analyse af MiAstV-kapsidprotein blev udtrykt i bakterieceller. Figur 1 viser det udtrykte kapsidprotein (85 kDa) påvist med western blotting analyse med anti-histidin antistof.

Resultater fra ELISA analysen af MiAstV-kapsidprotein specifikke IgG, efter korrigeret med den negative kontrol, i hunnernes serum da deres hvalpe var 1 dag gamle og i hunnernes mælk da deres hvalpe var 5 og 7 dage



FIGUR 1 WESTERN BLOT ANALYSE AF MiAstV-KAPSIDPROTEIN (CP) MÆRKET MED EN HISTIDINMARKØR DER BLEV OPRENSET VIA NIKKEL-KROMATOGRAFI. EFTER DE REDUCEREDE PRØVER BLEV KØRT PÅ EN SDS-PAGE BLEV DE ANALYSERET MED WESTERN BLOT ANALYSE MED ANTI-HIS ANTISTOF. BÅND 1: MAGIC MARKER, BÅND 2: PÅSAT CP, 3: GENNEMLØB CP, 4: ELUERET CP.

gamle, er vist i Figur 2. Der er tilsyneladende ikke udtrykt noget IgG specifikt for MiAstV kapsidprotein i hunnernes serum eller i mælk. Derudover er der ingen forskel mellem kontrol og case gården.

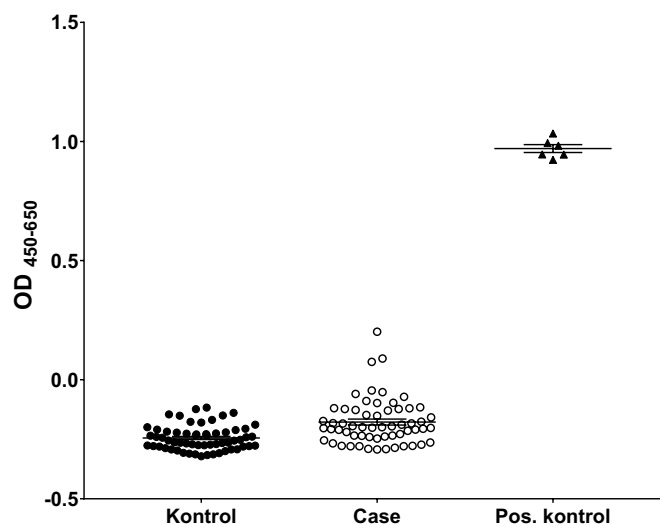


FIGUR 2 ELISA ANALYSE AF MiAstV KAPSIDPROTEIN SPECIFIKKE IgG I HUNNER. A) ANALYSE AF SERUMPRØVER FRA HUNNER MED HVALPE DER VAR 1 DAG GAMLE OG B) MÆLKEPRØVER DA HVALPENE VAR 5 OG 7 DAGE GAMLE. FORDI DER VAR FOR LIDT MATERIALE BLEV DER KUN ANALYSERET 11/20 AF MÆLKEPRØVERNE FRA KONTROL GÅRDEN OG 18/20 FRA CASE GÅRDEN. ALLE OD-VÆRDIER BLEV KORRIGERET MED MIDDLEVÆRDIEN AF EN NEGATIV KONTROL (SERUM FRA EN VOKSEN MINK TAGET FØR IMMUNISERING MED KAPSIDPROTEIN). DEN POSITIVE KONTROL VAR SERUM TAGET FRA EN VOKSEN MINK EFTER IMMUNISERING MED KAPSIDPROTEINET. RESULTATERNE ER PRÆSENTERET SOM MIDDLE OD-VÆRDIER \pm STANDARD ERROR OF MEAN (SEM).

Figur 3 viser ELISA analyse af serum fra hvalpe der var 13 og 15 dage gamle. Heller ikke her ser det ud til at der er nogle antistoffer mod MiAstV kapsidprotein i serum hos hvalpene. Igen er den positive kontrol meget højere end alle serumprøverne fra både kontrol og casegården.

Diskussion

MiAstV antages at være en vigtig risikofaktor i udviklingen af diarré i diegivningsperioden (Englund et al., 2002). Derudover er specifikke MiAstV antistoffer blevet undersøgt i serum hos mink immuniseret med MiAstV kapsidprotein som er et overfladeprotein udtrykt af ORF2 i viruset (Bidokhti et al., 2013). Der var udover en øget produktion af specifikke antistoffer også en øget beskyttelse af hvalpe i et immunisering-challenge forsøg, hvor hvalpe født af immuniserede hunner udviklede færre af de kliniske symptomer, man ser hos hvalpe med diarré (Bidokhti et al., 2013). I nærværende studie kunne vi ikke påvise tilstedeværelse af MiAstV kapsidprotein-specifikt IgG i hverken serum og mælk fra hunner eller i serum fra hvalpe. Dette kunne skyldes at den astrovirus, som var ude på gårdene, var fra en anden stamme end den vi anvendte i vores ELISA. Analyser af MiAstV ORF2 (fra fæces prøver) har vist, at der er forskellige varianter af MiAstV (Bidokhti et al.,



FIGUR 3 ELISA ANALYSE AF SERUM IgG SPECIFIKKE FOR MiAstV KAPSIDPROTEINET I 13-15 DAGE GAMLE MINKHVALPE. ALLE OD-VÆRDIER BLEV KORRIGERET MED MIDDLEVÆRDIEN AF EN NEGATIV KONTROL (SERUM FRA EN VOKSEN MINK TAGET FØR IMMUNISERING MED KAPSIDPROTEIN). DEN POSITIVE KONTROL VAR SERUM TAGET FRA EN VOKSEN MINK EFTER IMMUNISERING MED KAPSIDPROTEINET. RESULTATERNE ER PRÆSENTERET SOM MIDDLE OD-VÆRDIER \pm STANDARD ERROR OF MEAN (SEM).

2013). Derfor ville det være interessant at undersøge om den MiAstV der muligvis findes på de to gårde som var undersøgt i dette studie, ligner den stamme brugt i vores ELISA analyser. Hvis det ikke er tilfældet må den "nye" MiAstV fra gårdene bruges i en ny ELISA, så man kan teste om der er produktion af antistoffer specifikke for MiAstV i serum og mælk fra minkene fra præcis den gård. Mangel på MiAstV ude på case gården kunne ikke være grunden til at vi ikke så tilstedeværelsen af MiAstV specifikke IgG da viruset var blevet isoleret fra fæces hos hvalpene under samme periode i et studie af Birch (Birch, 2018).

Konklusion

Kapsidproteinet fra MiAstV blev brugt som basis for udviklingen af en indirekte ELISA analyse af serum og mælk. Vores resultater kan ikke konkludere at der var specifikke antistoffer for MiAstV kapsidproteinet i de prøver vi analyserede. Dette kunne måske betyde at specifikke antistoffer mod mink astrovirus ikke er associeret med diarre i diegivningsperioden eller at den mink astrovirus stamme som findes på minkgården inducerer IgG med en anden specificitet end det mink astrovirus antigen der blev brugt i dette studie.

Anerkendelser

Et stort tak til de farmere (K. J. Hansen og J. Jensen) for mink og uvurderlig hjælp til dette projekt. Henriette Vørholt takkes for teknisk bistand og Marion Baltzer Petersen og Stine Green Hansen for deres uvurderlige hjælp med at samle prøver ind på gårdene. Karin Ullman takkes for de positive og negative serumprøver til den indirekte ELISA analyse. Denne undersøgelse blev finansieret af Pelsdyragiftsfonden og København Fur.

Referencer

Bidokhti, M.R.M., Ullman, K., Jensen, T.H., Chriél, M., Mottahedin, A., Munir, M., Andersson, A.M., Detournay, O., et al. 2013. Establishment of stably transfected cells constitutively expressing the full-length and truncated antigenic proteins of two genetically distinct mink astroviruses. *PLoS ONE*. 8(12).

Birch, J.M. 2018. Diarrhea in mink kits during the pre-weaning period. PhD thesis. University of Copenhagen.

Birch, J.M., Agger, J.F., Aalbæk, B., Struve, T., Hammer, A.S. & Jensen, H.E. 2018. Dam characteristics associated with pre-weaning diarrhea in mink (*Neovison vison*). *Acta Veterinaria Scandinavica*. 60(73):11.

Chriél, M. 1997. Lad minktæverne selv bestemme!. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravsl.* 4(97):196–198.

Clausen, T.N. & Dietz, H.H. 2004a. Fedtede hvalpe. [in Danish]. Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur. 209–214.

Clausen, T.N. & Dietz, H.H. 2004b. Wet kits in mink: a review. *Scientifur*. 28:87–90.

Dietz, H.H. & Rattenborg, E. 1996. Histopathological and bacteriological investigation of healthy and greasy mink kits. [in Danish]. Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur. (2):135–138.

Englund, L., Chriél, M., Dietz, H.H. & Hedlund, K.O. 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. *Veterinary Microbiology*. 85(1):1–11.

Guardabassi, L., Schmidt, K.R., Petersen, T.S., Espinosa-Gongora, C. Moodley, A., Agersø, Y. & Olsen, J.E. 2012. Mustelidae are natural hosts of *Staphylococcus delphini* group A. *Veterinary Microbiology*. 159(3–4):351–353.

Hansen, S., Krarup, L.J., Agger, J.F., Ullman, K., Hedlund, K.O., Klingström, J., Andresen, L. & Hammer, A.S. 2014. Investigation of parvo-, corona-, and astrovirus as causative agents in outbreaks of diarrhea in Danish mink kits in the nursing and growth period 2013 - Preliminary results. [In Danish]. Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur. 131–138.

Henriksen, P. 1987. En oversigt over syndromet "Fedtede hvalpe" hos mink. [in Danish]. *Dansk Veterinærtidsskrift*. (70):580–583.

Hillemann, G. 1996. Fedtede hvalpe - Et kort sammendrag af spørgeskemaundersøgelserne gennemført af Nordjysk Minkfoder A / S i årene 1994, 1995 og 1996. [in Danish]. Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur. 225–226.

Jørgensen, M., Scheutz, F. & Strandbygaard, B. 1996. *Escherichia Coli* and virus isolated from "Sticky Kits". *Acta veterinaria Scandinavica*. 37(2):163–169.

Mittelholzer, C., Hedlund, K.-O., Englund, L., Dietz, H.-H. & Svensson, L. 2003. Molecular characterization of a novel astrovirus associated with disease in mink. *Journal of General Virology*. 84(Pt 11):3087–3094.

Olesen, C.R., Hansen, M. & Clausen, T.N. 1992. Sticky kits-risk factors and causality. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravsl.* 4:170–172.

Svennekjær, N.C. 1954. Minksygdomme-og aktuelle problemer i minkavl. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravsl.* 12:384–404.

Vulfson, L., Pedersen, K., Chriél, M., Frydendahl, K., Andersen, T.H., Madsen, M. & Dietz, H.H. 2001. Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark. *Veterinary Microbiology*. 79(2):143–153.

Vulfson, L., Pedersen, K., Chriél, M., Andersen, T.H. & Dietz, H.H. 2003. Assessment of the aerobic faecal microflora in mink (*Mustela vison* Schreiber) with emphasis on *Escherichia coli* and *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Microbiology*. 93(3):235–245. ✕

Sundhed og Sygdom

LAV KONCENTRATION AF IMMUN- GLOBULIN G I BLODET ER ASSOCIERET MED FEDTEDE HVALPE

Af Ronja Mathiesen¹, Mariann Chriél², Tina Struve³ & Peter M. H. Heegaard¹

¹Institut for Bioteknologi og Biomedicin, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet Bygning 204, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

²Afdeling for Diagnostik & Beredskab - Diagnostik & Udvikling, Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet Bygning 204, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

³Kopenhagen Fur, Langagervej 60, 2600 Glostrup, Denmark

Sammendrag

Minkhvalpe fødes med en lav koncentration af immunglobulin G (IgG) i blodet og den rolle IgG spiller i beskyttelse mod sygdomme, såsom fedtede hvalpe, er ikke blevet fuldt undersøgt. I dette studie undersøgte vi IgG koncentrationen i blod fra hvalpe fra to minkgårde hvor den ene gård havde et udbrud af fedtede hvalpe (case gården) og den anden var kontrol gården der ikke havde nogle udbrud af fedtede hvalpe. Vores resultater viste, at fedtede hvalpe havde en signifikant lavere koncentration af serum IgG i forhold til raske hvalpe da de var 13-15 dage gamle. Disse resultater kunne tyde på at et lavere indtag af IgG via mælken eller ved ringere optagelse via tarmen kunne prædisponere hvalpe for udvikling af fedtede hvalpe. De fedtede hvalpe havde en lavere tilvækst i forhold til de raske kontrol hvalpe. Derudover blev hvalpe født senere i fødselsperioden hurtigere påvirket af fedtede hvalpe syndromet end hvalpe født tidligere.

Mathiesen, R., Chriél, M., Struve, T. & Heegaard, P.M.H. 2019. Lav koncentration af immunglobulin G i blodet er associeret med fedtede hvalpe. Faglig Årsberetning 2018, 117-122. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Immunglobulin G, fedtede hvalpe, mink, Neovison vison, tilvækst

Abstract

Mink kits are born with a low concentration of immunglobulin G (IgG) in the blood and the role of IgG in regards to protection against diseases, such as pre-weaning diarrhea (PWD) has not been fully studied. In this study, we analyzed the concentration of IgG in blood collected from kits from two mink farms, with one farm being a case farm with high prevalence of PWD, and the other being a con-

trol farm with no cases of PWD. Our results showed that PWD-affected kits had a significantly lower concentration of serum IgG compared to unaffected kits at 13-15 days of age. Our results suggest that a lower intake of IgG from the milk or a reduced absorption via the intestine could pre-dispose kits for PWD. PWD-affected kits had a significantly reduced weight gain compared to healthy control kits. Furthermore, litters born later in the breeding period were affected by PWD at an earlier age than litters born earlier.

Mathiesen, R., Chriél, M., Struve, T. & Heegaard, P.M.H. 2019. Low concentration of immunoglobulin G is associated with pre-weaning diarrhea. Annual Report 2018, 117-122. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Immunoglobulin G, mink, Neovison vison, pre-weaning diarrhea, weight gain

Introduktion

Mink (*Neovison vison*) kan påvirkes af mange forskellige sygdomme under deres livscyklus (Dietz et al., 2007). En af de almindelige sygdomme i dieperioden er fedtede hvalpe hvor hele kullet rammes (Henriksen, 1987). Den typiske alder for udvikling af fedtede hvalpe ligger mellem 5-20 dage og enkelte gårde kan have problemer i op til 30 % af alle kuldene på gården og en noteret dødelighed i de ramte kuld på 1-2 hvalpe (Henriksen, 1987; Olesen, Hansen & Clausen, 1992; Clausen & Dietz, 2004a). De påvirkede hvalpe udvikler et fedtet udseende og der ses kliniske symptomer som hvid/gul diarré, dehydrering, fedtet hud på nakken og rød hævet perianal region (Hyldgaard-Jensen, 1989; Clausen & Dietz, 2004b). Derudover er det blevet påvist at fedtede hvalpe har en lavere vægt end raske hvalpe (Englund et al., 2001). Fedtede hvalpe

syndromet anses for multifaktoriel uden nogen specifik årsag (Englund et al., 2002; Clausen & Dietz, 2004b; Hansen et al., 2014). Enkelte minkgårde anvender antibiotika i dieperioden, men dette kan øge risiko for udvikling af resistente bakterier (Nikolaisen et al., 2017). Tidligere undersøgelser og erfaringer har vist, at førsteårs hunner har en større risiko for at få hvalpe der bliver fedtede end andetårs hunner (Birch et al., 2017; Chriél, 1997). Dette kunne tyde på, at førsteårs hunner overfører et mere naivt immunforsvar til deres afkom og derved er hvalpene mindre beskyttet. Sådanne effekter er observeret hos både køer og søer, idet højere paritet er associeret med en højere koncentration af antistoffer, såsom immunoglobulin G (IgG), i mælken (Klobasa & Butler, 1987; Gulliksen et al., 2008). En større mængde af IgG i mælken kunne muligvis beskytte hvalpene mod udvikling af fedtede hvalpe.

Den vigtigste immunoglobulinklasse i minkmælk er IgG og minkhvalpe fødes med lav koncentration af IgG i blodet, hvilket betyder at de har et ringe immunforsvar og er afhængige af at optage IgG fra mælken for at modstå mikroorganismer i deres nærmiljø (Coe & Race, 1978). Minkhvalpene kan optage IgG via hunnernes mælk i 4-5 uger efter fødsel i modsætning til andre dyrarter såsom køer, grise og hunde, hvor passagen lukker 12-24 timer efter fødsel (Hurley & Theil, 2011; van Dijk et al., 2018). Passiv immunisering med IgG overført fra moderen til deres afkom blev demonstreret for mere end 100 års siden (Calmette, 1896). I grise er det påvist at immunoglobuliner beskytter mod bakterier og udviklingen af diarré (Porter & Hill, 1970; Hedegaard et al., 2016), i fritter mod influenza virus (Husseini et al., 1984; Sweet, Jakeman & Smith, 1987) og i mink er der påvist antistoffer mod plasmacytose (Aasted, Alexandersen & Hansen, 1988).

Den mulige forebyggelse som IgG kunne bidrage med i forhold til udviklingen af fedtede hvalpe er ikke blevet fuldt undersøgt. I dette studie undersøgte vi om der var en mulig sammenhæng imellem koncentration af IgG og udviklingen af fedtede hvalpe på to forskellige minkgårde (en case og en kontrol gård).

Materiale og metoder

Dyr

Mink blev udvalgt fra 2 sjællandske minkgårde i 2017. I alt blev 100 førsteårs hunner og deres kuld inkluderet. Førsteårs hunner blev valgt på gårdene fordi de har en øget risiko for at få kuld der udvikler fedtede hvalpe syndromet (Birch et al., 2017; Chriél, 1997). Case gården havde fedtede hvalpe i 56 % ud af 50 kuld da hvalpene var henholdsvis 13-15 dage gamle (13-15). På kontrolgården var der ingen af de 50 kuld der var påvirket af fedtede hvalpe. Gårdejer valgte alle hunner tilfældigt ud mellem kuld med en kuldstørrelse på 6-9 hvalpe. Hunnerne med kuld blev delt op i 4 grupper på baggrund af fødselstidspunktet (tabel 1).

Prøvetagning

Blodprøver blev taget fra alle 100 (n=50 fra hver af de to gårde) mink hunner da deres hvalpe var henholdsvis 1 og 13-15 dage gamle. Der blev udtaget mælk fra 10 hunner ud af de 50 på hver gård da hvalpene var 3, 5, 7 og 13-15 dage gamle (de 10 hunner fra case gården fik kun taget blod og mælk indtil dag 13). Samtidigt med malkningen fik de 10 hunner og 2 hvalpe fra 2 af kuldene taget blod på hver gård. Blodet blev centrifugeret ved 4000 G i 15 minutter ved 4 °C for at separere serum og plasma. Serum blev opsamlet og opbevaret ved -20 °C. Ved hvert besøg blev alle hvalpene i et kuld vejede og klinisk vurderet: diarré, rød og hævet perianal region, dehydrering og fedtet i nakken. Hvalpenes vægt inden for hvert kuld blev udregnet ved at tage vægten for hele kullet og dividere med antal hvalpe.

Analyse af prøverne

IgG koncentrationen i serum og mælk blev analyseret med en sandwich ELISA (Mathiesen et al., 2018).

Statistiske analyser

Data blev analyseret med statistiske analyser udført i GraphPad Prism version 7 (GraphPad Software, San Diego, California, USA, www.graphpad.com). Data blev testet for normalitet med Shapiro-Wilk testen. Data blev analyseret vha. Mann-Whitney U testen. Signifikansniveau blev fastsat til 0,05. Afgørelser blev testet og fjernet ved hjælp af ROUT ("robust regression and outlier removal") metoden (Q = 1 %) (Motulsky & Brown, 2006).

TABEL 1 FORDELING AF KULD OG FØDSELSTIDSPUNKT FOR DE FIRE GRUPPER PÅ KONTROL OG CASE GÅRDEN

GÅRD	GRUPPE	ANTAL KULD I HVER GRUPPE	FØDSELSDATO (2017)
Kontrol	1	10	26 April
Case	1	10	27 April
Kontrol	2	10	28 April
Case	2	16	29 April
Kontrol	3	16	30 April
Case	3	14	1 Maj
Kontrol	4	14	2 Maj
Case	4	10	3 Maj

Resultater

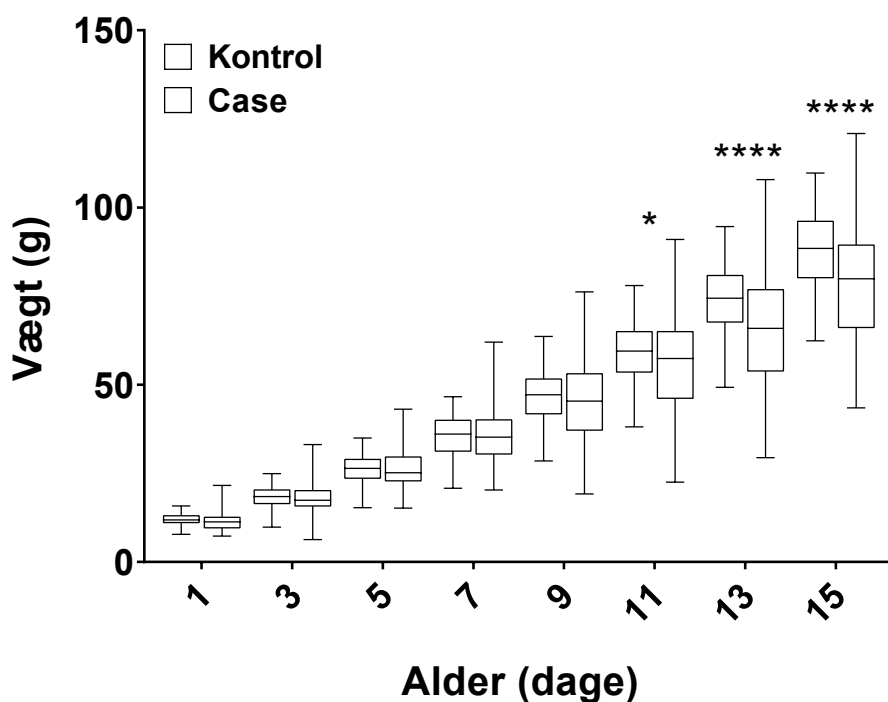
Tabel 2 viser median-vægten for hvalpe fra 1-15 dage gamle. Medianen af vægten for 1 dag gamle hvalpe var 11,9 g for hvalpe fra kontrolgården og 11,3 g for hvalpe fra

case gården. Der var ikke en stor forskel i vægt mellem raske og fedtede hvalpe da de var 1-9 dage gamle (Figur 1 og Tabel 2) men medianvægten var signifikant forskellig fra dag 11 ($p < 0,05$) og frem til dag 15 ($p < 0,0001$).

TABEL 2 MINK HVALPENES VÆGTUDVIKLING FRA DE ER 1 TIL 15 DAGE GAMLE.

ALDER (DAGE)	CONTROL GÅRD				CASE GÅRD			
	ANTAL HVALPE	MEDIAN VÆGT (G)	25 TH PER-CENTILE (G)	75 TH PER-CENTILE (G)	ANTAL HVALPE	MEDIAN VÆGT (G)	25 TH PER-CENTILE (G)	75 TH PER-CENTILE (G)
1	401	11,9	11,0	13,2	401	11,3	9,5	12,8
3	334	18,5	16,3	20,5	343	17,4	15,6	20,3
5	327	26,4	23,4	29,1	331	25,2	22,7	29,8
7	314	36,1	31,1	40,2	323	35,2	30,3	40,3
9	306	47,2	41,6	51,8	321	45,4	37,0	53,3
11	306	59,5	53,4	65,2	316	57,4	46,0	65,2
13	306	74,4	67,5	81,0	307 ¹	65,9	53,7	77,0
15 ¹	305	88,5	80,1	96,3	256	79,9	66,0	89,6

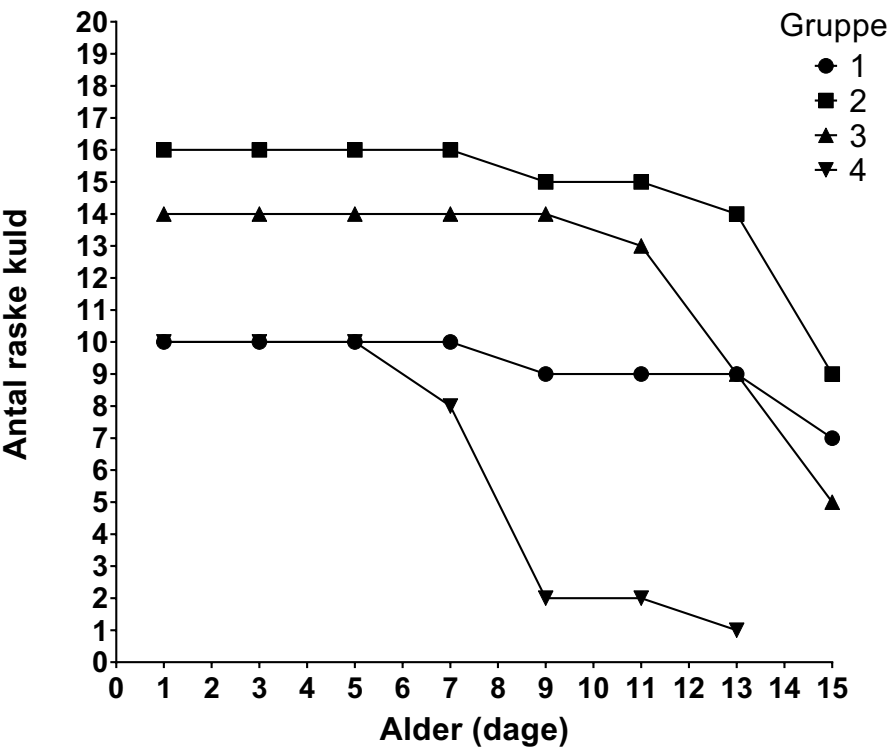
¹GRUPPE 1-4 PÅ KONTROL GÅRDEN BLEV VEJET INDIL DE VAR 15 DAGE GAMLE, HVORIMOD GRUPPE 1-3 PÅ CASE GÅRDEN BLEV VEJET INDIL DAG 15 OG GRUPPE 4 INDIL DAG 13 (SE TABEL 1 FOR GRUPPEFORDILING).



FIGUR 1 VÆGTUDVIKLING HOS MINKHVALPENE FRA KONTROL (HVIDE BOKSE) OG CASEGÅRDEN (GRÅ BOKSE). (* $P < 0,05$; **** $P < 0,0001$). LODRETTE BARER VISER MINIMUMVÆRDI OG MAKSIMUMVÆRDI. BOKSENE ANGIVER 25 % -75 %. MEDIANEN ER ANGIVET MED VANDRET STREG.

I Figur 2 ses antallet af raske kuld på case gården med hensyn til hvalpenes alder. Det kan ses at jo senere hvalpene bliver født (gruppe 4, Tabel 1) jo tidligere bliver hvalpene påvirket af fedtede hvalpe syndromet. I gruppe 4

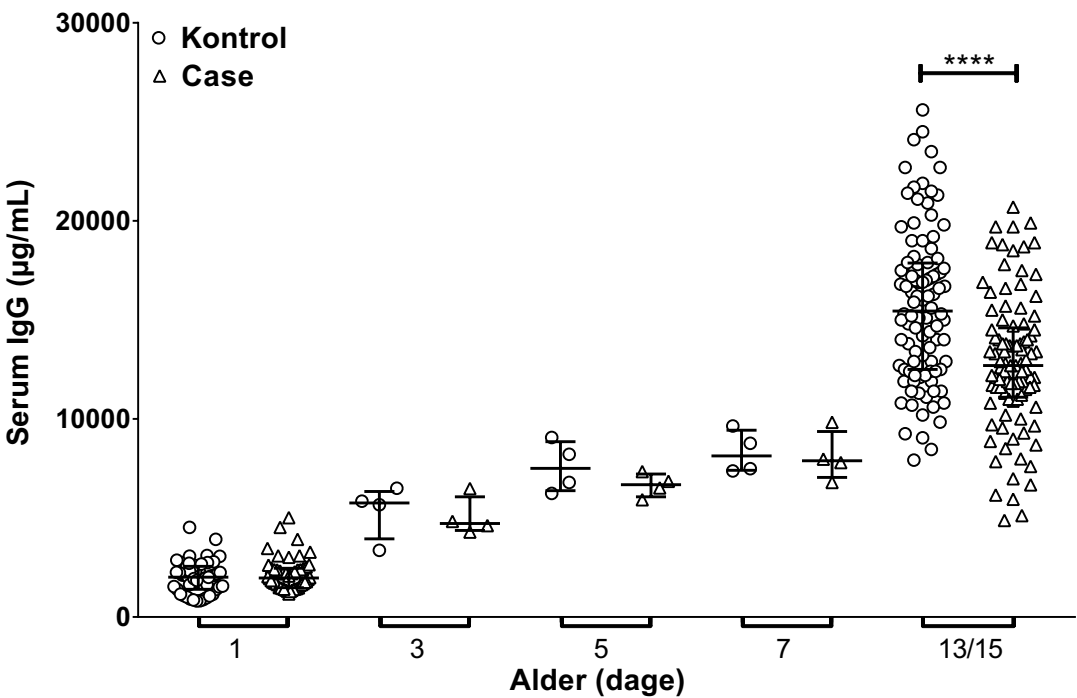
bliver hvalpene syge allerede efter 7 dage. De andre grupper (1-3) bliver først påvirket fra hvalpene var 9-11 dage gamle.



FIGUR 2 FRAFALD AF RASKE KULD PÅ CASE GÅRDEN. HVER GRUPPE (1-4) HAR FORSKELLIGE ANTAL KULD (GRUPPE 1: N=10, GRUPPE 2 N=16, GRUPPE 3: N=14, GRUPPE 4: N=10) OG FØDELSTIDSPUNKT (TABEL 1).

Som der kan ses i Figur 3 var der ikke nogen signifikant forskel i serum IgG koncentration mellem raske hvalpe fra kontrol gården (Figur 3) og syge hvalpe fra case gården indtil hvalpene var 7 dage gamle, men signifikant forskel

i serum IgG koncentration ved 13-15 dage ($p<0,0001$). Median serum IgG koncentrationen dag 15 i kontrol hvalpe var $15,450 \mu\text{g/mL} \pm 5,375 \mu\text{g/mL}$ og $12,700 \mu\text{g/mL} \pm 3,500 \mu\text{g/mL}$ hos syge hvalpe.



FIGUR 3 SERUM IgG KONCENTRATION HOS HVALPE DAG 1-13-15 FRA KONTROL GÅRDEN (CIRKLER) OG CASE GÅRDEN (TREKANTER). N=50 (DAG 1), N=4 (DAG 3, 5, OG 7) OG N=100 (DAG 15, KONTROL GÅRD) OG N=97 (DAG 13-15, CASE GÅRD). **** $P<0,0001$. LODRETTE BAR VISER MEDIANEN ± INTERQUARTILE RANGE (IQR).

Diskussion

I denne undersøgelse blev hvalpene vejede hver anden dag indtil afslutningen af prøveindsamlingen. Der var en statistisk forskel mellem hvalpenes vægt på kontrol gården og case gården fra dag 11 (Figur 1), hvilket også er observeret i et tidligere studie med fedtede hvalpe (Englund et al., 2001). Vores resultater viser at antallet af fedtede kuld stiger ved dag 9 og 11, hvilket kunne indikere at den ringere vægtøgning skyldes udviklingen af fedtede hvalpe. Stress er tidligere nævnt som en faktor som kan påvirke udviklingen af fedtede hvalpe (Chriél, 1995; Elnif, 1997) og den mest stressede gruppe på hver gård var gruppe 4 der også fik taget mælk og blod dag 3, 5, 7, og 15. Dette kunne forklare hvorfor denne gruppe blev angrebet af fedtede hvalpe først og mistede så mange raske kuld, men det kunne også forklares ved at gruppe 4 var den gruppe der fødte deres kuld senest (Tabel 1) som også har vist sig at have en betydning for udviklingen af fedtede hvalpe (Chriél, 1997; Birch et al., 2017).

Minkhvalpe er født med et meget naivt immunforsvar og lave koncentrationer af IgG i blodet og er derfor afhængig af IgG fra moderens mælk indtil de selv kan producere IgG ved 7-8 uger [Coe & Race, 1978]. I dieperioden er hvalpene meget sårbare overfor at udvikle fedtede hvalpe syndromet og effekten af IgG på denne udvikling er ikke blevet undersøgt. Da alderen på hunnerne er en af risikofaktorerne med hensyn til udviklingen af fedtede hvalpe (Birch et al., 2017; Chriél, 1997) kunne dette indikere at ældre hunner er eksponeret for mikroorganismer i deres nær miljø i en længere periode end førsteårs hunner og derved potentiel øger deres koncentration eller specificitet af forskellige immunfaktorer, såsom IgG. I andre dyrearter er det vist f.eks. at højere paritet hos køer øger mængden af IgG i mælken [Gulliksen et al., 2008]. Samme effekt er fundet ved søer [Klobasa & Butler, 1987]. I vores undersøgelse var der ingen forskel i serum eller mælk IgG koncentrationen fra kontrol og case hunnerne (data ikke vist), men undersøgelsen omfattede kun førsteårs hunner. Ved at inkludere andetårs hunner kunne man se om dette også var tilfældet hos mink.

Serum koncentrationen af IgG hos minkhvalpene indikerer ingen forskel imellem kontrol og case gården da hvalpene var 1, 3, 5, og 7 dage gamle (Figur 3). Derimod var der i denne periode en tendens imod en lavere IgG koncentration i serum fra hvalpene fra case gården i forhold til kontrol gården. Da der kun blev udtaget 2 hvalpe fra 2 kuld på hver gård (n=4) da hvalpene var 3, 5, og 7 dage gamle ville en større undersøgelse med flere hvalpe ved hvert tidspunkt kunne fortælle mere om hvordan IgG koncentrationen ændres og om IgG kunne associeres med en udvikling af fedtede hvalpe. Da hvalpene var 13 og 15 dage gamle var der en signifikant forskel i serum IgG koncentrationen mellem hvalpe fra kontrol og case gården [$p < 0,0001$, Figur 3]. Under denne periode var der også et tab af hvalpe på case gården (Figur 2) hvilket også er set hos andre arter såsom hundehvalpe (Mila et al., 2014), pattegrise [Devillers, Le Dividich & Prunier, 2011] og kalve [Al-Alo et al., 2018] hvor en lav IgG koncentration i blodet øgede mortaliteten. Hvorvidt den reducerede serum IgG koncentration er en forudsætning for eller en effekt af syndromet mangler stadig at blive belyst. Dårligt optag af mælk hos hvalpene eller for lille produktion af mælk hos hunnerne kan reducere koncentration af IgG hos hvalpe-

ne. Mælkeproduktionen hos hunnerne er blevet beskrevet som en øget risiko for at udvikle fedtede hvalpe [Clausen & Dietz, 2004a], men selv om der kunne indsamles mælk fra hunner på begge gårde, kendes den totale produktion af mælk ikke. Da der også blev set en reduktion i vægtøgning på case gården i forhold til kontrol gården hos hvalpene efter de var 11 dage gamle (Figur 1) kunne det indikere at deres optag af mælk og derved også IgG fra hunnerne var nedsat. Da man har observeret mælk i maven på fedtede hvalpe, antages det ikke at nedsat indtag af mælk kan forklare fedtede hvalpe (Henriksen, 1988), hvilket man også har observeret hos pattegrise med "new neonatal porcine diarrhea" (NNPD), som er et syndrom der ligner fedtede hvalpe [Kongsted et al., 2013].

Konklusion

Fedtede hvalpe er et problem der stadig påvirker hvalpe på minkgårde rundt om i hele verden. Problemet er multifaktorielt og der findes endnu ingen kur eller behandling for fedtede hvalpe. Vores resultater indikerer at IgG kunne være associeret med udviklingen af fedtede hvalpe da hvalpe fra case gården havde en lavere koncentration af IgG i deres blod da de var 13-15 dage gamle. Den lavere koncentration af IgG kunne være pga dårligere optag af mælk via tarmen hvilket også kunne forklare hvorfor der var en lavere øgning i vægt hos hvalpene fra case gården. Den immunologiske status hos hvalpene kunne have betydning for udviklingen og mulig IgG supplement kunne beskytte hvalpene mod at udvikle syndromet.

Anerkendelser

Et stort tak til de farmere [K. J. Hansen og J. Jensen] for mink og uvurderlig hjælp til dette projekt. Henriette Vørholt takkes for teknisk bistand og Marion Baltzer Petersen og Stine Green Hansen for deres uvurderlige hjælp med at samle prøver ind på gårdene. Denne undersøgelse blev finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden og København Fur.

Referencer

- Aasted, B., Alexandersen, S. & Hansen, M. 1988. Treatment of Neonatally Aleutian Disease Virus (ADV) infected mink kits with gammaglobulin containing antibodies to ADV reduces the death rate of mink kits. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 29(3-4):323-330.
- Al-Alo, K.Z.K., Nikbakht Brujeni, G., Lotfollahzadeh, S., Moosakhani, F. & Gharabaghi, A. 2018. Correlation between neonatal calf diarrhea and the level of maternally derived antibodies. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 19(1):3-8.
- Birch, J.M., Agger, J.F., Dahlin, C., Jensen, V.F., Hammer, A.S., Struve, T. & Jensen, H.E. 2017. Risk factors associated with diarrhea in Danish commercial mink (*Neovison vison*) during the pre-weaning period. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 59(1):43.
- Birch, J.M., Agger, J.F., Aalbæk, B., Hammer, A.S. & Jensen, H.E. 2017. The influence of the female on diarrhea in the pre-weaning period in the mink. [in Danish]. *Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur*. 106-109.
- Calmette, A. 1896. The Treatment of Animals Poisoned with Snake Venom by the Injection of Antivenomous Serum. *British medical journal*. 2(1859):399-400.

- Chriél, M. 1995. Problemerne kan minimeres ved at undgå stress. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravl.* 4:169–171.
- Chriél, M. 1997. Lad minktæverne selv bestemme!. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravl.* 4(97):196–198.
- Clausen, T.N. & Dietz, H.H. 2004a. Wet kits in mink: a review. *Scientifur.* 28:87–90.
- Clausen, T.N. & Dietz, H.H. 2004b. Fedtede hvalpe. [in Danish]. *Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur.* 209–214.
- Coe, J.E. & Race, R.E. 1978. Ontogeny of Mink IgG, IgA, and IgM [40039]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 157(1978):289–292.
- Devillers, N., Le Dividich, J. & Prunier, A. 2011. Influence of colostrum intake on piglet survival and immunity. *Animal.* 5(10):1605–1612.
- Dietz, H.H., Henriksen, P., Clausen, T.N. & Chriél, M. 2007. A brief compendium of the most commonly encountered diseases in mink and foxes in Denmark.
- van Dijk, A., Hedegaard, C.J., Haagsman, H.P. & Heegaard, P.M.H. 2018. The potential for immunoglobulins and host defense peptides (HDPs) to reduce the use of antibiotics in animal production. *Veterinary Research.* 49(1):68.
- Elnif, J. 1997. Stress og fedtede hvalpe. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravl.* 5:230–231.
- Englund, L., Mittelholzer, C., Dietz, H.H., Hedlund, K.O. & Svensson, L. 2001. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. [in Danish]. *Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur.* 153–158.
- Englund, L., Chriél, M., Dietz, H.H. & Hedlund, K.O. 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. *Veterinary Microbiology.* 85(1):1–11.
- Gulliksen, S.M., Lie, K.I., Sølverød, L. & Østerås, O. 2008. Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *J Dairy Sci.* 91(2):704–712.
- Hansen, S., Krarup, L.J., Agger, J.F., Ullman, K., Hedlund, K.O., Klingström, J., Andresen, L. & Hammer, A.S. 2014. Investigation of parvo-, corona-, and astrovirus as causative agents in outbreaks of diarrhea in Danish mink kits in the nursing and growth period 2013 - Preliminary results. [In Danish]. *Annual Report, Copenhagen Research, Copenhagen Fur.* 131–138.
- Hedegaard, C.J., Strube, M.L., Hansen, M.B., Lindved, B.K., Lihme, A., Boye, M. & Heegaard, P.M.H. 2016. Natural pig plasma immunoglobulins have anti-bacterial effects: Potential for use as feed supplement for treatment of intestinal infections in pigs. *PLoS ONE.* 11(1):1–14.
- Henriksen, P. 1987. En oversigt over syndromet "Fedtede hvalpe" hos mink. [in Danish]. *Dansk Veterinærtidsskrift.* (70):580–583.
- Henriksen, P. 1988. "Wet kits" - acute enteritis in pre-weaning mink. In *Proceedings of the IV international congress in fur animal production.* IFASA. 208–212.
- Hurley, W.L. & Theil, P.K. 2011. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients.* 3(4):442–474.
- Husseini, R.H., Sweet, C., Overton, H. & Smith, H. 1984. Role of maternal immunity in the protection of newborn ferrets against infection with a virulent influenza virus. *Immunology.* 52(3):389–94.
- Hyldgaard-Jensen, C. 1989. "Greasy kits" in mink. Observations over a three year period. [in Danish]. *Dansk Veterinærtidsskrift.* 72(10):566–571.
- Klobasa, F. & Butler, J.E. 1987. Absolute and relative concentrations of immunoglobulins G, M, and A, and albumin in the lacteal secretion of sows of different lactation numbers. *American Journal of Veterinary Research.* 48(2):176–182.
- Kongsted, H., Jonach, B., Haugegaard, S., Angen, Ø., Jorsal, S., Kokotovic, B., Larsen, L.E., Jensen, T.K., et al. 2013. Microbiological, pathological and histological findings in four Danish pig herds affected by a new neonatal diarrhoea syndrome. *BMC Veterinary Research.* 9(1):206.
- Mathiesen, R., Chriél, M., Struve, T. & Heegaard, P.M.H. 2018. Quantitative immunoassay for mink immunoglobulin in serum and milk. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 60(36):1–9.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonner, M., Martin, M., Rossig, L. & Chastant-Maillard, S. 2014. Inadequate passive immune transfer in puppies: Definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine.* 116(1–2):209–213.
- Motulsky, H.J. & Brown, R.E. 2006. Detecting outliers when fitting data with nonlinear regression - A new method based on robust nonlinear regression and the false discovery rate. *BMC Bioinformatics.* 7:1–20.
- Nikolaisen, N.K., Lassen, D.C.K., Chriél, M., Larsen, G., Jensen, V.F. & Pedersen, K. 2017. Antimicrobial resistance among pathogenic bacteria from mink (*Neovison vison*) in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 59(1):60.
- Olesen, C.R., Hansen, M. & Clausen, T.N. 1992. Sticky kits - risk factors and causality. [in Danish]. *Dansk Pelsdyravl.* 4:170–172.
- Porter, P. & Hill, I.R. 1970. Serological changes in immunoglobulins IgG, IgA and IgM and *Escherichia coli* antibodies in the young pig. *Immunology.* 18(4):565–573.
- Sweet, C., Jakeman, K.J. & Smith, H. 1987. Role of milk-derived IgG in passive maternal protection of neonatal ferrets against influenza. *The Journal of general virology.* 68(1987):2681–86.
- Tauson, A.-H. 1994. Postnatal development in mink kits. *Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Science.* 44(3):177–184. ✕

Sundhed og Sygdom

KLINISK STUDIE AF EFFEKTEN AF 3 ALTERNATIVE BEHANDLINGER SAMMENLIGNET MED KONVENTIONEL AMOXICILLINTERAPI AF MINKHVALPE MED DIARRÉ I DIEPERIODEN

Af Julie Melsted Birch¹, Jens Frederik Agger¹, Mikael Leijon², Karin Ullman², Tina Struve³ og Henrik Elvang Jensen¹

¹ Department of Veterinary and Animal Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Ridebanevej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark

² Department of Microbiology, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden.

³ Copenhagen Diagnostics, Copenhagen Fur, Langagervej 60, DK-2600 Glostrup, Denmark

Sammendrag

Diarré i dieperioden også kendt som "fedtede hvalpe" er et multifaktorielt syndrom hos minkhvalpe med en uafklaret ætiologi. Evidensfunderede behandlingsprotokoller er ikke tilgængelige, hvorfor behandlingen ofte er empirisk og baseret på brug af antibiotika. Formålet med dette kliniske forsøg var at sammenligne effekten af 3 alternative behandlinger (probiotika, smalspektret penicillin og væske) med konventionel behandling med amoxicillin på tilvækst og mortalitet hos diende hvalpe med udbrud af diarré. Sekundært var formålet at karakterisere studiepopulationen mikrobiologisk. Stafylokker tilhørende *S. intermedius* gruppen, *E. coli* og *E. hirae*, samt astrovirus og calicivirus kunne identificeres fra tarmindehold fra kuld inkluderet i forsøget. Multivariabel mixed model regressionsanalyse viste ingen signifikant forskel i tilvækst mellem behandlingsgrupperne. Der var heller ingen signifikant forskel i dødeligheden mellem grupperne.

Birch, J.M., Agger, J.F., Leijon, M., Ullman, K., Struve, T., & Jensen, H.E. 2019. Klinisk studie af effekten af 3 alternative behandlinger sammenholdt med konventionel amoxicillinterapi af minkhvalpe med diarré i dieperioden. Faglig Årsberetning 2018, 123-127. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Mink, diarré, fedtede hvalpe, terapi, amoxicillin, penicillin, probiotika, *Lactobacillus reuteri*, Next Generation Sequencing, virus, bakterier

Abstract

Pre-weaning diarrhea (sticky kits) is a multifactorial syndrome in mink kits with an unclarified etiology. Evidence based treatment protocols are not available, hence the treatment is often empirical and based on the use of antimicrobials. The aim of this study was to compare the

effect of three alternative treatments (probiotic, narrow-spectrum antimicrobial and fluid) with a conventional amoxicillin treatment on growth and mortality in mink kits with pre-weaning diarrhea. Secondly, the aim was to characterize the study population microbiologically. Staphylococci belonging to *S. intermedius* group, *E. coli*, *E. hirae*, astrovirus and calicivirus were identified from intestinal contents from litters included in the trial. Multivariable mixed model regression showed no significant difference in growth between the treatment groups. We did neither see a significant difference in mortality between the treatment groups.

Birch, J.M., Agger, J.F., Leijon, M., Ullman, K., Struve, T., & Jensen, H.E. 2019. Clinical trial comparing the effect of 3 alternative treatments and conventional amoxicillin therapy of mink kits with pre-weaning diarrhea. Annual Report 2018, 123-127. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Mink, diarrhea, sticky kits, therapy, amoxicillin, penicillin, probiotics, *Lactobacillus reuteri*, Next Generations Sequencing, virus, bacteria

Introduktion

Udbrud af diarré i dieperioden (PWD) er hvert år årsag til nedsat tilvækst, nedsat velfærd, øget dødelighed blandt hvalpe, og økonomiske tab for avlerne. Syndromet rammer typisk 1-4 uger gamle hvalpe og er typisk karakteriseret ved fremkomst af et fedtet ekssudat på huden og samtidig forekomst af diarré (Clausen and Dietz, 2004; Dietz et al., 2006). Diarréen kan føre til dehydrering og eventuelt død. PWD betragtes som multifaktoriel og alder af moderdyr, kuldstørrelse og fodringsintensitet har været associeret med forekomst af syndromet (Birch et al., 2017; Chriél, 1997; Clausen and Dietz, 2004; Møller

TABEL 1 BEHANDLINGSPROTOKOL FOR MINKHVALPE INKLUDERET I FORSØG

FORSØG	N	BEH.-GRUPPE	MEDIKAMENT	ADM. VEJ	DAG 0	DAG 1	DAG 2	DAG 3
A	37	Probiotika	<i>Lactobacillus reuteri</i> ^a	PO	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
	36	Kontrol	Amoxicillin ^b	SC	15mg		15mg	
B	41	Penicillin	Benzylpenicillin-prokain ^c	SC	30000IE		30000IE	
	37	Kontrol	Amoxicillin ^b	SC	15mg		15mg	
C	37	Væske	Ringer lactate ^d	SC	5-10% af LV	5-10% af LV	5-10% af LV	5-10% af LV
	38	Kontrol	Amoxicillin ^b	SC	15mg		15mg	

N ANTAL HVALPE, PO PERORALT, SC SUBKUTANT, LV LEGEMSVÆGT.

^a L. REUTERI DSM 17938, SEMPER, BIOGAIA

^b NOROMOX PROLONGATUM VET., 150 MG/ML, SCANVET ANIMAL HEALTH

^c NOROPEN PROLONGATUM VET., 300.000 IE/ML, SCANVET ANIMAL HEALTH

^d RINGER LACTATE, ISOTONIC, FRESINUM KABI

and Chriél, 2000). Studier har fokuseret på mulige mikrobiologiske ætiologier til PWD såsom forskellige virus og bakterier (Birch et al., 2018; Danieu et al., 2005; Englund et al., 2002; Guo et al., 2001; Jørgensen et al., 1996; Sledge et al., 2010; Svansson, 1991; Vulfson et al., 2001). Dette har dog ikke ført til en klar forståelse af deres rolle i sygdomsudviklingen, idet mange af disse mikroorganismer også kan isoleres fra raske minkhvalpe (Birch et al., 2018; Englund et al., 2002; Jørgensen et al., 1996; Svansson, 1991). Antibiotikaforbruget på danske minkgårde har været stigende de seneste år og er fundet associeret til dieperioden, hvor PWD og mastitis optræder (Jensen et al., 2016; Nikolaisen et al., 2017). Stigningen i antibiotikaforbruget i minkproduktion er bekymrende, da det menes at have ført til en stigning i udviklingen af resistente bakterier (Nikolaisen et al., 2017; Pedersen et al., 2009). Farmakokinetiske studier af antibiotika til mink er ikke eksisterende, hvilket også gælder egentlige evidensbaserede behandlingsstrategier for hvalpe og minkgårde med udbrud af PWD. Derfor er behandlingen empirisk baseret og inkluderer oftest anvendelse af bredspektret antibiotika (især amoxicillin) til hvalpe og/eller moderdyret. Anvendelse af probiotika som alternativ til antibiotika i forbindelse med forebyggelse og behandling af diarré hos børn og juvenile dyr har været indgående undersøgt (Chen et al., 2014; Dinleyici and Vandenplas, 2014; Guandalini, 2011; Preidis et al., 2012; Siggers et al., 2008; Urbańska et al., 2016). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (*L. reuteri*) er en probiotikastamme, der har vist sig at kunne reducere varigheden af diarré hos børn (Urbańska et al., 2016). Hos nyfødte pattegrise reducerede behandling med *L. reuteri* forekomsten af diarré og øgede den daglige tilvækst (Hou et al., 2015). I mus med rotavirus infektion reducerede behandling med *L. reuteri* varigheden af diarrén og læsionerne i tarmen (Preidis et al., 2012). Effekten af *L. reuteri* har ikke tidligere været undersøgt i forbindelse med udbrud af PWD blandt minkhvalpe. Behandling med antibiotika i forbindelse med PWD har været anset for at være vigtig for at reducere mortaliteten (Olesen and Clausen, 1989), men effekten af smalspektret penicillin eller parenteral væsketerapi har ikke tidligere været testet.

Formålet med studiet var at sammenligne effekten af 3 alternative behandlinger med amoxicillinbehandling på

tilvækst og mortalitet hos minkhvalpe med PWD. De 3 alternative behandlinger var: 1) probiotika (*L. reuteri*), 2) smalspektret penicillin (benzylpenicillin) og 3) parenteral væsketerapi (Ringer lactat). Ydermere blev studiepopulationen karakteriseret virologisk og bakteriologisk inden behandling.

Materiale og metoder

Forsøgsdesign

I løbet af 4 dage blev i alt 226 minkhvalpe fra 36 kuld fra en sjællandsk minkgård med spontant udbrud af PWD inkluderet i eksperimentet. Hvalpene var 1-3 uger gamle og udviste typiske tegn på PWD, f.eks. fedtet hudekssudat, tilsmudsning i perinealområdet, hævet rød anus og diarré. Ingen af moderdyrene havde klinisk mastitis eller havde tidligere været behandlet med medicin. Eksperimentet forløb som 3 parallelle gruppe design. Kuldene blev randomiseret til enten Forsøg A (probiotika versus amoxicillin), Forsøg B (smalspektret penicillin versus amoxicillin) eller Forsøg C (væsketerapi versus amoxicillin). Der var 12 kuld i hvert forsøg. En hvalp fra hvert kuld blev aflivet før behandling til diagnostik. Resten af hvalpene i kullet blev stratificeret efter køn og randomiseret til enten den alternative behandlingsgruppe eller kontrolgruppen som fik amoxicillin. Alle hvalpe blev identificeret (kitID) ved injektion af mikrochip (Uno Pico transponder, UNO BV) og vejlet på Dag 0. Hvalpene blev herefter behandlet som vist i Tabel 1.

Minkhvalpene modtog ingen anden behandling, men redekasse materialet blev udskiftet ved behov. Hvalpene blev tilset dagligt, døde hvalpe registreret, og hvalpene blev vejlet på dag 0, dag 7 og dag 15, samt da de var 42 dage gamle, hvor forsøget sluttede. Hvalpe der nåede humane endpoints blev aflivet. I alt 5 af de 36 moderdyr (fordelt på alle 3 forsøg) udviklede klinisk mastitis og blev behandlet én gang med 45 mg amoxicillin intramuskulært. Eksperimentet var blændet for avler og laboratorier og godkendt af Dyreforsøgstilsynet og Lægemedelstyrelsen.

Bakteriologi

Fra de aflivede hvalpe på dag 0 blev der sterilt udtaget svaber fra den distale colon. Svabere blev opbevaret på køl inden de blev indsendt til Sektion for Veterinær Mi-

TABEL 2 TILVÆKST OG MORTALITET BLANDT HVALPE INKLUDERET I FORSØG A, B OG C

	FORSØG A (N=73)		FORSØG B (N=78)		FORSØG C (N=75)	
	Probiotika n=37	Kontrol n=36	Penicillin n=41	Kontrol n=37	Væske n=37	Kontrol n=38
Antal hunhvalpe	15	15	16	12	16	15
Antal hanhvalpe	22	21	25	25	21	23
Kuldstørrelse dag 0	6.1 [1.5]		6.5 [1.6]		6.25 [1.1]	
Alder dag 0 (dg)	14.3 [3.9]		15.0 [2.8]		14.4 [3.7]	
Tilvækst dag 0-7(g)	43.8 [20.4]	46.8 [15.9]	39.3 [20.7]	41.9 [19.0]	36.8 [17.8]	44.4 [19.3]
Tilvækst dag 7-15 (g)	76.7 [30.0]	71.6 [29.9]	65.0 [30.6]	69.6 [26.6]	71.5 [31.8]	67.6 [33.4]
Antal døde hvalpe dag 0-15	9 [24.3%]	3 [8.3%]	4 [9.8%]	6 [16.2%]	6 [16.2%]	2 [5.3%]
Vægt ved 42-dages alder (g)	407.7 [75.9]	416.0 [48.6]	354.5 [77.5]	370.1 [69.7]	376.2 [93.5]	381.7 [89.8]

N ANTAL, DG DAGE, G GRAM. GENNEMSNIET, STANDARDAFVIGELSE I PARENTES

krobiologi, Københavns Universitet, hvor de blev udsået på blodagarplader og inkuberet aerobt ved 37°C i 24-48 timer. De to hyppigst forekommende bakteriekolonier blev subkultiveret i 24 timer før de blev identificeret med MALDI-TOF-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) (Fang et al., 2012).

Viral metagenomics

Tarmindhold fra en aflivet hvalp fra hvert kuld på dag 0 (12 prøver fra hvert forsøg A, B og C) blev opsamlet i en cryotube og opbevaret ved -20°C. Prøverne blev tilfældigt poollet indenfor hvert forsøg med 3 prøver i hver pool (4 pools i hvert forsøg). På National Veterinary Institute (SVA) i Uppsala, Sverige blev der ekstraheret viralt RNA og syntetiseret dobbeltstrengt cDNA. Disse blev indekseret og sekventeret på en Illumina MiSeq platform. Sekvenser (reads) taxonomisk klassificeret til virus blev derefter trimmet (CLC genomic workbench, Qiagen) og sammenlignet med gensekvenser i National Center of Biotechnology Information (NCBI) databasen for taxonomisk klassifikation som tidligere beskrevet (Birch et al., 2018). Derefter blev antallet af reads normaliseret for hver pool og adderet for hvert forsøg A, B og C.

Statistik

Deskriptiv statistik blev udført for kuldstørrelse, alder og vægt på dag 0, 7 og 15. Data for tilvækst fra dag 0 til dag 7 (periode 1) og fra dag 7 til dag 15 (periode 2) blev analyseret og sammenlignet ved t-test indenfor hvert forsøg. Vægt ved 42-dages alderen blev testet med t-test indenfor hvert forsøg og dødeligheden blev testet med chi-i-anden test eller Fischers Exact, hvis forventede værdier var <5. Sammenhængen mellem tilvækst og behandling blev testet i multivariabel mixed model regressions test vha. Proc Mixed SAS 9.4 (SAS Institute Inc.) for hvalpe der overlevede 15 dage. Variablen "Behandling" var af primær interesse. Derudover blev "køn" og "alder dag 0" inkluderet som systematiske effekter. Kuld_ID blev sat som tilfældig effekt. Modellen tog desuden højde for cluster design (HvalpeID knyttet til KuldID) med gentagende målinger

(periode 1 og 2) på hver minkhvalp. P-værdier under 0.05 blev betragtet som signifikante.

For uddybende beskrivelse af metoder henvises der til: Birch, JM. The effect of different treatments of mink (*Neovison vison*) kits with pre-weaning diarrhea. 2018. In: Diarrhea in mink kits during the pre-weaning period. PhD thesis. Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

Resultater

Mikrobiel karakterisering af forsøgsgrupperne

Identifikation af bakteriekulturer udtaget fra hvalpe på dag 0 inden behandlingsstart viste, at *Staphylococcus spp.* kunne isoleres fra 47% af prøverne, *E. hirae* blev isoleret fra 80% af prøverne og *E. coli* blev isoleret fra 44% af prøverne. Alle på nær et isolat tilhørte *Staphylococcus intermedius* gruppen. Resultater fra next generation sequencing af RNA-virus sekvenser viste, at astrovirus og calicivirus var de hyppigst forekomne virus. Ved at summere antallet af reads for hver pool var der mellem 1.05-1.24 mio. reads tilhørende astrovirus i hver af de 3 forsøg (A, B og C), og ligeledes var der mellem 114-460 x10³ reads tilhørende calicivirus i hver af de 3 forsøg.

Behandlingseffekt på tilvækst og mortalitet

Summarisk statistik for tilvækst og mortalitet er præsenteret i Tabel 2. Hanhvalpe udgjorde 61% af studiepopulationen og hunhvalpe 39%. Kuldstørrelsen i Forsøg A, B og C var henholdsvis 5-9, 4-9 og 4-8. Der var ingen signifikante forskelle i tilvækst i periode 1 (dag 0 - dag 7) eller periode 2 (dag 7 - dag 15) og ej heller på vægten ved 42-dages alderen mellem nogen af de alternativt behandlede hvalpe og deres respektive kontroller ved simple t-tests. I alt 30/226 minkhvalpe (13%) døde i løbet af de første 15 dage af eksperimentet. De fleste af disse (19/30) skete i løbet af den anden uge (periode 2) sammenlignet med 11/30 i den første uge. Der blev ikke fundet nogen signifikante forskelle i dødsraten mellem behandlingerne i nogen af de 3 forsøg (A, B og C).

Multivariable mixed model regressionsanalyse af behandlingseffekten på tilvæksten fra 0-15 dage blev udført separat for forsøg A, B og C og tog højde for, at der var tale om cluster design (hvalpe er knyttet til kuld/moderdyr) med korrelerede data, og at tilvæksten var påvirket af køn og alder ved inklusion i forsøget. Baseret på disse analyser var tilvæksten hos probiotikabehandlede hvalpe 1.2 g højere end hos amoxicillinbehandlede hvalpe, men denne forskel var ikke signifikant ($P=0.65$). Penicillinbehandlede hvalpes tilvækst var 3.6 g lavere end de amoxicillinbehandlede hvalpe, ($P=0.32$) og væskebehandlede hvalpes tilvækst var 3.7 g lavere ($P=0.22$) end deres amoxicillinbehandlede kuldsøskende. Således kunne der for ingen af de alternative behandlinger ses en signifikant forskel i tilvæksten sammenlignet med amoxicillinbehandlede hvalpe, når der samtidig blev taget hensyn til køn, alder dag 0, periode og kuldID/moderdyr for hvalpe der overlevede 15 dage.

Diskussion

Hvalpe i dette kliniske forsøg blev inkluderet den dag kullet blev fundet at opfylde inklusionskriterierne. Kendetegnende var det, at hvalpene bremsedes i deres tilvækst eller tabte vægt i begyndelsen af forsøgsperioden, for derefter at genoptage væksten, når diarréen var ovre. Resultater for tilvækst for hvalpe der overlevede de første 15 dage af forsøget viste stor variation, men ingen signifikante forskelle kunne ses mellem nogen af de 3 alternative behandlinger (smalspektret penicillin, probiotika og væske) og hvalpe der fik amoxicillin (kontrol grupperne). Dette tyder på, at alle tre alternative behandlinger var lige så effektive som behandlingen med amoxicillin. Af etiske grunde inkluderede vi ikke en kontrolgruppe, som ingen behandling fik, og derfor er det en mulighed, at ingen af behandlingerne (inklusive injektion med amoxicillin) havde nogen gavnlige effekt på hvalpe med diarré i dieperioden, når det gælder tilvækst.

Vi så heller ingen signifikant forskel i dødeligheden mellem de alternative behandlingsgrupper og kontrolgrupperne. Dødeligheden var størst 7-15 dage efter behandlingsstart (data ikke vist) og udgjordes af hvalpe, der aldrig genoptog væksten og faldt bagud i forhold til deres kuldsøskende, formodentligt pga. et nedsat mælkeindtag. Imidlertid var der stor variation i dødeligheden, og moderdyrenes forskellige præstationer og ydeevne kan let have påvirket dette antal.

Studiepopulationen blev mikrobiologisk karakteriseret ved positiv dyrkning af stafylokokker tilhørende *Staphylococcus intermedius* gruppen (*S. delphini*), *E. coli* og *E. hirae*. Både *S. delphini* og *E. coli* er velkendte bakterier hos raske hvalpe og hvalpe med diarré i dieperioden (Danieu et al., 2005; Jørgensen et al., 1996; Sledge et al., 2010; Vulfson et al., 2001). Enterokokker betragtes som en del af den normale bakterieflora hos minkhvalpe i denne alder (Vulfson et al., 2003), men har også tidligere været associeret med diarré hos neonatale individer hos andre dyrearter (Etheridge and Vonderfecht, 1992; Hermann-Bank et al., 2015; Jonach et al., 2014; Larsson et al., 2014; Nicklas et al., 2010). Hvalpene havde et højt indhold af astrovirus og calicivirus i tarmindholdet, hvilket stemmer overens med tidligere undersøgelser, hvor der er fundet en sammenhæng mellem disse virus og diarré hos minkhvalpe (Englund et al., 2002; Guo et al., 2001; Mittelholzer et al.,

2003). Studiepopulationen var dermed homogen i mikrobiologisk henseende og typisk for hvalpe med og uden diarré i dieperioden.

Selvom dette studie må betragtes som et pilotstudie med et begrænset antal hvalpe, og resultaterne derfor ikke berettiger til skråsikre konklusioner om, at antibiotika helt kan udelades i behandlingen af hvalpe med diarré i dieperioden, genererer studiet interessante perspektiver i forhold til muligheden for at undlade brug af antibiotika til behandling af dyr med PWD.

Konklusion

På baggrund af data fra hvalpe der overlevede de første 15 dage af forsøget fandt vi ingen signifikant forskel i tilvæksten mellem hvalpe behandlet med probiotika, smalspektret penicillin eller væske og amoxicillinbehandlede hvalpe. Dødeligheden var størst i løbet af den anden uge af forsøgsperioden, men der sås ingen signifikante forskelle mellem behandlingerne.

For yderligere læsning henvises til: Birch, J.M. The effect of different treatments of mink (*Neovison vison*) kits with pre-weaning diarrhea. 2018. In: Diarrhea in mink kits during the pre-weaning period. PhD thesis. Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

Tak

Minkavler Klaus Juel Hansen takkes for samarbejdet og for at stille dyr til rådighed på hans minkgård. Anne Sofie Johansen og Nicole Lind Henriksen takkes for deres uvurderlige praktiske hjælp, og Pelsdyravgiftsfonden, Dansk Pelsdyravlerforenings Forskningsfond og Innovationsfonden takkes for økonomisk støtte.

Referencer

- Birch, J.M., Agger, J.F., Dahlin, C., Jensen, V.F., Hammer, A.S., Struve, T., Jensen, H.E., 2017. Risk factors associated with diarrhea in Danish commercial mink (*Neovison vison*) during the pre-weaning period. *Acta Vet. Scand.* 59:43.
- Birch, J.M., Ullman, K., Struve, T., Agger, J.F., Hammer, A.S., Leijon, M., Jensen, H.E., 2018. Investigation of the viral and bacterial microbiota in intestinal samples from mink (*Neovison vison*) with pre-weaning diarrhea syndrome using Next Generation Sequencing. *PLoS One* 13:e0205890.
- Chen, X.Y., Woodward, A., Zijlstra, R.T., Gänzle, M.G., 2014. Exopolysaccharides synthesized by *Lactobacillus reuteri* protect against enterotoxigenic *Escherichia coli* in piglets. *Appl. Environ. Microbiol.* 80:5752–5760.
- Chriél, M., 1997. Lad minktæverne selv bestemme! *Dansk Pelsdyravl* 60:196–198.
- Clausen, T.N., Dietz, H.H., 2004. Wet kits in Mink, a review. *Scientifur* 28:87–90.
- Danieu, P., Anderson, B., Maes, R., Bolin, C., Kiupel, M., 2005. "Sticky kits" syndrome in mink (*Mustela vison* L.): A secretory diarrhea associated with *Staphylococcus intermedius* colonization, in: *Proceedings of the Institute for Zoo and Wildlife Research*. pp. 122–123.

- Dietz, H.H., Henriksen, P., Clausen, T.N., Chriél, M., 2006. A brief compendium of the most commonly encountered diseases in mink and foxes in Denmark. Dep. of Small Animal Clinical Sciences, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.
- Dinleyici, E.C. agri, Vandenplas, Y., 2014. Lactobacillus reuteri DSM 17938 effectively reduces the duration of acute diarrhoea in hospitalised children. Acta Paediatr. 103:e300–e305.
- Englund, L., Chriél, M., Dietz, H.H., Hedlund, K.-O., 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. Vet. Microbiol. 85:1–11.
- Etheridge, M.E., Vonderfecht, S.L., 1992. Diarrhea caused by a slow-growing Enterococcus-like agent in neonatal rats. Lab. Anim. Sci. 42:548–550.
- Fang, H., Ohlsson, A.K., Ullberg, M., Özenci, V., 2012. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK 2 system for the identification of clinical Enterococcus isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 31:3073–3077.
- Guandalini, S., 2011. Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. J Clin Gastroenterol 45:149–153.
- Guo, M., Evermann, J.F., Saif, L.J., 2001. Detection and molecular characterization of cultivable caliciviruses from clinically normal mink and enteric caliciviruses associated with diarrhea in mink. Arch. Virol. 146:479–493.
- Hermann-Bank, M.L., Skovgaard, K., Stockmarr, A., Strube, M.L., Larsen, N., Kongsted, H., Ingerslev, H.-C., Mølbak, L., Boye, M., 2015. Characterization of the bacterial gut microbiota of piglets suffering from new neonatal porcine diarrhoea. BMC Vet. Res. 11:139.
- Hou, C., Zeng, X., Yang, F., Liu, H., Qiao, S., 2015. Study and use of the probiotic Lactobacillus reuteri in pigs: A review. J. Anim. Sci. Biotechnol. 6:1–8.
- Jensen, V.F., Sommer, H.M., Struve, T., Clausen, J., Chriél, M., 2016. Factors associated with usage of antimicrobials in commercial mink (*Neovison vison*) production in Denmark. Prev. Vet. Med. 126:170–182.
- Jonach, B., Boye, M., Stockmarr, A., Jensen, T., 2014. Fluorescence in situ hybridization investigation of potentially pathogenic bacteria involved in neonatal porcine diarrhea. BMC Vet. Res. 10:68.
- Jørgensen, M., Scheutz, F., Strandbygaard, B., 1996. Escherichia coli and virus isolated from "sticky kits." Acta vet scand 37:163–169.
- Larsson, J., Lindberg, R., Aspán, A., Grandon, R., Westergren, E., Jacobson, M., 2014. Neonatal Piglet Diarrhoea Associated with Enteroadherent Enterococcus hirae. J. Comp. Pathol. 151:137–147.
- Mittelholzer, C., Englund, L., Hedlund, K.-O., Dietz, H.-H., Svensson, L., 2003. Detection and Sequence Analysis of Danish and Swedish Strains of Mink Astrovirus. J. Clin. Microbiol. 41: 5192–5194.
- Møller, S.H., Chriél, M., 2000. Health effects of the feeding strategies in the pre-mating and gestation periods of mink. Scientifur 24:37–41.
- Nicklas, J.L., Moisan, P., Stone, M.R., Gookin, J.L., 2010. In situ molecular diagnosis and histopathological characterization of enteroadherent Enterococcus hirae infection in pre-weaning-age kittens. J. Clin. Microbiol. 48:2814–2820.
- Nikolaisen, N.K., Lassen, D.C.K., Chriél, M., Larsen, G., Jensen, V.F., Pedersen, K., 2017. Antimicrobial resistance among pathogenic bacteria from mink (*Neovison vison*) in Denmark. Acta Vet. Scand. 59:60.
- Olesen, C.R., Clausen, T.N., 1989. Fedtede hvalpe Resultater fra forsøgsfarmen Vest 1989. Fagl. Årsberetning, København Forskning, København Fur: 154–164.
- Pedersen, K., Hammer, A.S., Sørensen, C.M., Heuer, O.E., 2009. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink. Vet. Microbiol. 133:115–122.
- Preidis, G.A., Saulnier, D.M., Blutt, S.E., Mistretta, T.A., Riehle, K.P., Major, A.M., Venable, S.F., Barrish, J.P., Finnegold, M.J., Petrosino, J.F., Guerrant, R.L., Conner, M.E., Versalovic, J., 2012. Host response to probiotics determined by nutritional status of rotavirus-infected neonatal mice. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 55:299–307.
- Siggers, R.H., Siggers, J., Boye, M., Thymann, T., Mølbak, L., Leser, T., Jensen, B.B., Sangild, P.T., 2008. Early administration of probiotics alters bacterial colonization and limits diet-induced gut dysfunction and severity of necrotizing enterocolitis in preterm pigs. J. Nutr. 138:1437–1444.
- Sledge, D.G., Danieu, P.K., Bolin, C. a, Bolin, S.R., Lim, a, Anderson, B.C., Kiupel, M., 2010. Outbreak of neonatal diarrhea in farmed mink kits (*Mustella vison*) associated with enterotoxigenic Staphylococcus delphini. Vet. Pathol. 47:751–757.
- Svensson, V., 1991. Studie af en række virusbetingede infektioner hos mink (Study of a number of virus-induced infections in mink). University of Copenhagen.
- Urbańska, M., Gieruszczak-Biatek, D., Szajewska, H., 2016. Systematic review with meta-analysis: Lactobacillus reuteri DSM 17938 for diarrhoeal diseases in children. Aliment. Pharmacol. Ther. 43:1025–1034.
- Vulfson, L., Pedersen, K., Chriél, M., Andersen, T.H., Dietz, H.H., 2003. Assessment of the aerobic faecal microflora in mink (*Mustela vison* Schreiber) with emphasis on Escherichia coli and Staphylococcus intermedius. Vet. Microbiol. 93:235–245.
- Vulfson, L., Pedersen, K., Chriél, M., Frydendahl, K., Holmen Andersen, T., Madsen, M., Dietz, H.H., 2001. Sero-groups and antimicrobial susceptibility among Escherichia coli isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark. Vet. Microbiol. 79:143–153. ✕

OVERFØRSEL AF AMOXICILLIN FRA BEHANDLEDE HUNMINK TIL DERES DIENDE HVALPE

Af Julie Melsted Birch¹, Henrik Lauritz Frandsen², Tina Struve³, Jens Frederik Agger¹ og Henrik Elvang Jensen¹

¹ Department of Veterinary and Animal Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Ridebanevej 3, DK-1870 Frederiksberg C

² National Food Institute, Technical University of Denmark, Kemitorvet building 202, DK-2800 Kgs. Lyngby

³ Copenhagen Diagnostics, Copenhagen Fur, Langagervej 60, DK-2600 Glostrup

Sammendrag

Antibiotikabehandling i forbindelse med diarré i dieperioden hos minkhvalpe sker empirisk "off label" og ofte ved brug af amoxicillin. Ved større udbrud af diarré er enkelt-dyrsbehandling af syge hvalpe meget tidskrævende, og på nogle minkgårde anvendes der i stedet behandling af hunminken enten via foderet eller ved injektion. Formålet med studiet var at undersøge overførslen af amoxicillin fra hunminken til de diende hvalpe efter henholdsvis peroral og intramuskulær administration i løbet af de første 8 timer. Serumprøver fra minkhvalpe viste at koncentrationen af amoxicillin var højest 8 timer efter behandling af hunminken uanset administrationsvejen. Koncentrationerne blev vurderet for lave til at have antibakteriel effekt på relevante tarmbakterier.

Birch, J.M., Frandsen, H.L., Struve, T., Agger, J.F. & Jensen, H.E. 2019. Overførsel af amoxicillin fra behandlede hunmink til deres diende hvalpe. Faglig Årsberetning 2018, 128-131. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Mink, diarré, fedtede hvalpe, laktation, mælk, amoxicillin

Abstract

Antimicrobial treatment of pre-weaning diarrhea in mink kits is empirically and "off label" based and often by the use of amoxicillin. In larger outbreaks of diarrhea, single animal treatment is very time consuming. Therefore, in some farms treatment of the dam, either through the feed or as injection, is used instead. The aim of the study was to examine the transfer of amoxicillin from the dam to the suckling mink kits during the first 8 hours after orally or intramuscular treatment, respectively. Serum samples from mink kits showed the highest concentration of amoxicillin 8 hours after treatment of the dam, independently of the administration route. The concentrations

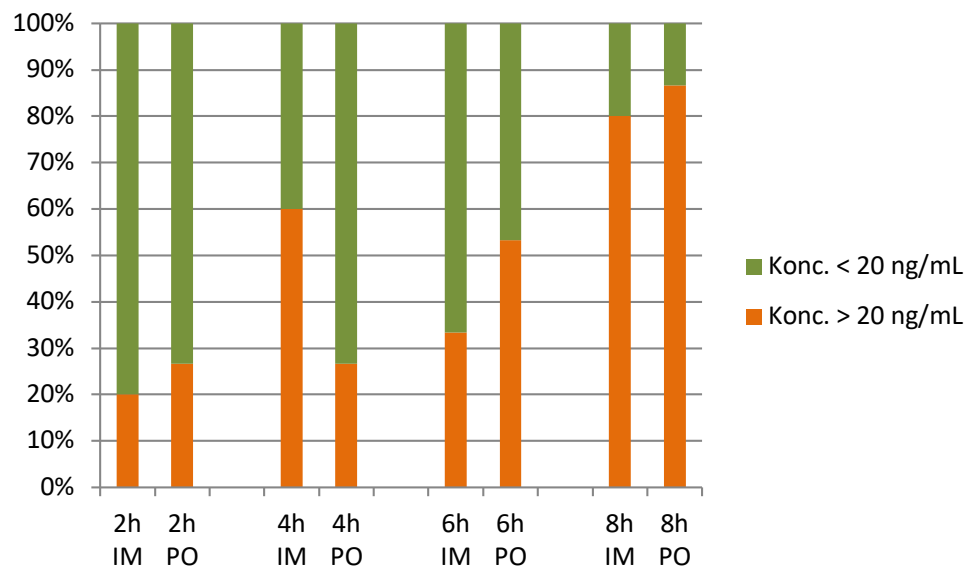
were judged too low to exert antibacterial effects on relevant gut bacteria.

Birch, J.M., Frandsen, H.L., Struve, T., Agger, J.F. & Jensen, H.E. 2019. Transfer of amoxicillin from dams to suckling mink kits. Annual Report 2018, 128-131. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

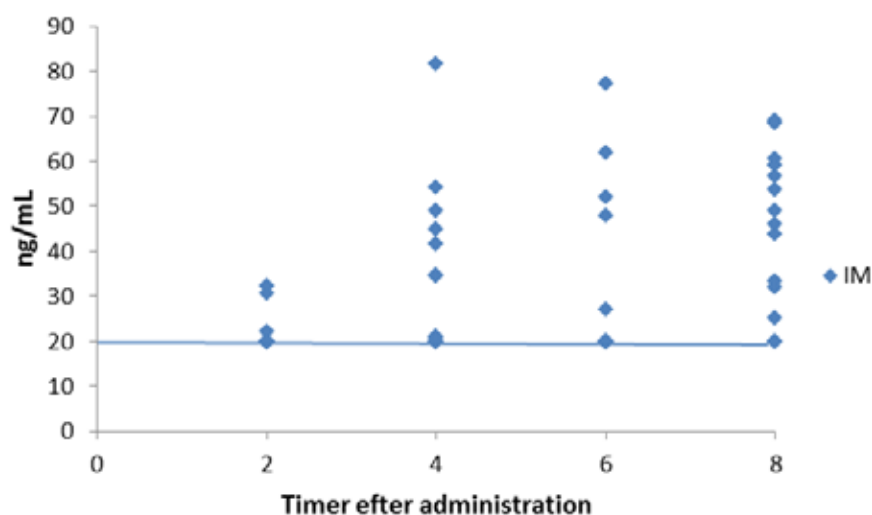
Keywords: Mink, pre-weaning diarrhea, sticky kits, lactation, milk, amoxicillin

Introduktion

Diarré i dieperioden hos mink, også kendt som "fedtede hvalpe", er et multifaktorielt syndrom (Englund et al., 2002). Blandt mikrobiologiske årsager til syndromet har flere virus og bakterier, deriblandt astrovirus, calicivirus, *Escherichia coli* og stafylokokker, været associeret med udbrud af syndromet (Danieu et al., 2005; Englund et al., 2002; Guo et al., 2001; Jørgensen et al., 1996; Sledge et al., 2010). Mangel på registrerede antibiotikapræparater til mink i Danmark medvirker til at brugen af antibiotika til diarré i dieperioden sker empirisk og "off label". Forbruget af antibiotika i dansk minkproduktion har været stigende i en årrække og er især knyttet til dieperioden (Jensen et al., 2016; Nikolaisen et al., 2017). Amoxicillin er det mest anvendte antibiotikum (Nikolaisen et al., 2017) og anvendes hyppigt i laktationsperioden til mastitis og hvalpe med diarré. Det er almindelig praksis, at hvalpe med diarré injiceres med dette antibiotikum subkutant, men ved større udbrud, administreres amoxicillin nogle steder til hunminkene, enten i foderet eller ved injektion (personlig observation). Det vides at ampicillin, som er nært beslægtet med amoxicillin, udskilles i minkmælk (Andersen et al., 1988), men ingen studier har vist, om amoxicillin optages hos de diende hvalpe. Ydermere er resistens blandt mink-associerede *E. coli* overfor dette antibiotikum hyppigt forekommende (Nikolaisen et al., 2017; Pedersen et



FIGUR 1 ANDELEN AF MINKHVALPE MED MÅLBARE SERUMKONCENTRATIONER AF AMOXICILLIN. IM INTRAMUSKULÆRT, PO PERORALT, H TIMER.



FIGUR 2 AMOXICILLIN SERUMKONCENTRATION I MINKHVALPE EFTER INTRAMUSKULÆR BEHANDLING AF MINKHUNNER. DEN VANDRETTE STREG ANGIVER DETEKTIONSGRÆNSEN.

al., 2009). Formålet med dette studie var at undersøge om amoxicillin overføres fra peroralt (PO) og intramuskulært (IM) behandlede hunmink til de diende hvalpe. Dernæst var formålet at sammenligne hvalpenes serumkoncentrationer af amoxicillin fra PO og IM behandlede hunmink.

Materiale og metoder

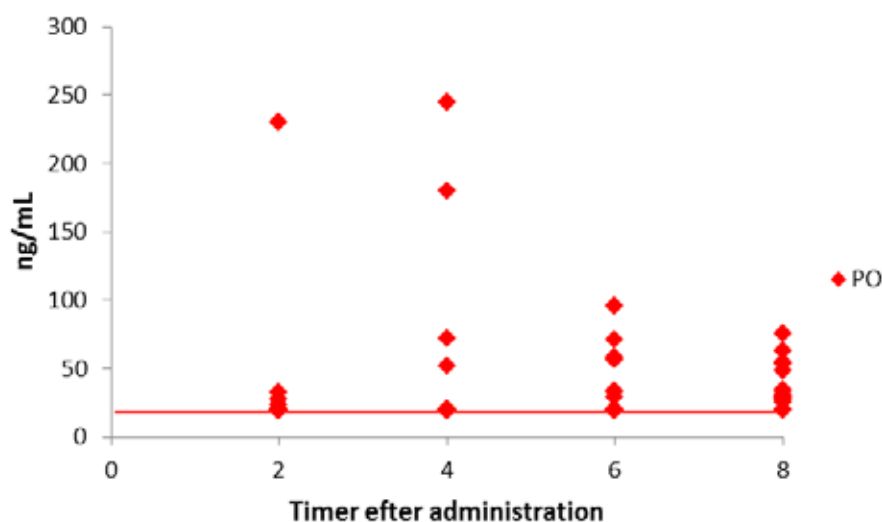
Dyr og forsøgsdesign

På en dansk minkgård blev i alt 20, 2-3 år gamle silverblue minkhunner med hver 7, 13-16 dage gamle minkhvalpe allokateret til forsøgene. I alt 10 af minkhunnerne fik en intramuskulær injektion med 150 mg amoxicillin (Betamox, Vet, ScanVet Animal Health) (IM-gruppen). De resterende 10 minkhunner fik 150 mg amoxicillin (Amoxinsol Vet, ScanVet Animal Health) (PO-gruppen) opblandet i 2 ml dåsekattemat indgivet som en bolus peroralt. Hvalpene

i kullet blev tilfældigt mærket fra 1-7 og hvalp nr. 1 blev fjernet til tiden 0 (T_0), før hunminken blev reintroduceret til kullet. Hver 2. time i 8 timer (T_2 - T_8) blev 1-2 hvalpe efter nummerorden fjernet fra kullet, og alle hvalpe blev aflivet momentant med et slag i hovedet efterfulgt af dekapitation. Blod blev opsamlet fra hver hvalp til serumproduktion, som blev nedfrosset ved -20°C . For hver forsøgsgruppe (PO og IM) blev der således opsamlet 10 kontrolprøver (T_0) og 15 serumprøver til hvert af tidspunkterne T_2 , T_4 , T_6 og T_8 . Eksperimentet var godkendt af Dyreforsøgstilsynet og Lægemiddelstyrelsen.

LC Q-TOF analyse

Serumprøverne blev klargjort og analyseret på DTU, Fødevareinstituttet. Liquid Chromatography blev udført på en Dionex Ultimate 3000 RS (Thermo Scientific) som var



FIGUR 3 AMOXICILLIN SERUMKONCENTRATION I MINKHVALPE EFTER PERORAL BEHANDLING AF MINKHUNNER. DEN VANDRETTE STREG ANGIVER DETEKTIONSGRÆNSEN.

forbundet til et Bruker Daltonics maXis qTOF massespektrometer som tidligere beskrevet (Birch, 2018).

Statistik

Data for amoxicillin koncentrationerne var venstre censureret med en detektionsgrænse fra LC-qTOF analysen på 20 ng/mL (LOD). Serumkoncentrationerne blev logaritmetransformeret og analyseret i en Tobit Model i SAS 9.4 (SAS Institute Inc.). Outcome var "koncentration" og forklarende kategoriske variable var "behandlingsgruppe" og "tid". Da gruppe var insignifikant blev de to grupper slået sammen og 95% konfidensintervaller for koncentration estimeret til de forskellige tider. Der var således 30 observationer til hver af tiderne T_2 - T_8 . Signifikansniveauet blev sat til 0.05.

Resultater

Antallet af prøver med målbare koncentrationer af amoxicillin steg med tiden og fremgår af Figur 1. Efter 8 timer var der stadig 17% (5/30) af prøverne som havde et niveau af amoxicillin under detektionsgrænsen (20 ng/mL). Alle kontrolprøverne havde en koncentration < 20 ng/mL.

Serumkoncentrationerne til de forskellige tider fremgår af Figur 2 og Figur 3.

Resultater fra Tobit Modelllen viste, at behandlingsgruppe (PO el. IM) ikke var signifikant ($P = 0.64$), så serumkoncentrationerne blev estimeret samlet for grupperne. Koncentrationerne blev således estimeret til: T_2 : 10.6 ng/mL [95% CI=6.7-16.9], T_4 : 20.4 ng/mL [95%CI=13.9-30.0], T_6 : 19.6 [95%CI=13.4-28.8], T_8 : 34.0 [95%CI=24.3-47.7].

Diskussion

Vi har med forsøget vist, at amoxicillin overføres fra hunmink til deres hvalpe via mælken. Overførslen var stigende i løbet af forsøgsperioden på 8 timer med en stigende andel af hvalpe der havde målbare serumkoncentrationer af amoxicillin. Efter 8 timer var der dog stadig

17% af hvalpene med niveauer under detektionsgrænsen, hvilket sandsynligvis kan forklares med et forstyrret mælkeindtag i løbet af forsøget. Koncentrationerne var afhængige af tid men ikke af administrationsvejen. Dette ligger i tråd med tidligere studier, hvor serumkoncentrationen var størst efter 2 timer efter både peroral og intramuskulær behandling af voksne mink (Struve et al., 2014). Det kan ikke udelukkes at koncentrationerne ville have nået højere niveauer, hvis forsøgsperioden havde været forlænget, men sammenlignes resultaterne for PO-gruppen med situationen ved fodermedicinering af lakterende minkhunner på minkgårde, adskiller vores forsøg sig ved, at vi indgav hele dosis som en bolus. Der vil ved fodermedicinering derfor kunne forventes et forhalet optag, og niveauerne af amoxicillin i hvalpene vil dermed sandsynligvis være lavere og forsinket ved samme dosering af hunminken. Dertil kommer, at hvalpene i vores forsøg var raske sammenlignet med hvalpe med diarré, som typisk er svækkede og derfor kan have et reduceret mælkeindtag. Data for Minimal Inhibitory Concentration (MIC) breakpoints eksisterer for mennesker og hunde og viser f.eks at følsomme *E. coli* stammer og *Enterococcus spp.* inhiberes ved 8 µg/mL (Anonymous, 2017a, 2017b, 2015). De fleste stafylokker er resistente overfor amoxicillin pga. penicillinaseproduktion og for *Streptococcus spp.* er MIC 0.25 µg/mL (Anonymous, 2017a, 2017b, 2015). Sammenlignes disse data med de højeste estimerede serumniveauer i hvalpene fremgår det, at koncentrationerne var 7-235x lavere end MIC værdierne på trods af en høj dosis (ca. 100mg/kg) givet til hunminken.

Konklusion

Amoxicillin kunne overføres fra behandlede minkhunner til deres diende hvalpe og kunne måles i stigende koncentrationer hos hvalpene fra 0 til 8 timer efter administration. Den højeste koncentration af amoxicillin blev estimeret efter 8 timer uafhængigt af administrationsvejen hos hunminken. Resultaterne tyder på, at behandling af hunminken med amoxicillin ved udbrud af diarré hos hval-

pene er en tvivlsom måde til at opnå effektive serumkoncentrationer overfor relevante tarmbakterier på.

For yderligere læsning henvises til: Birch, JM. Transfer of amoxicillin to suckling mink (*Neovison vison*) kits from dams treated orally or intramuscularly. 2018. In: Diarrhea in mink kits during the pre-weaning period. PhD thesis. Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

Tak

Tak til minkavler Jesper Kim Jensen som stillede de fysiske rammer og dyr til rådighed og tak til Dennis Brok, Nicole Lind Henriksen og Elisabeth Wairimu Petersen for deres praktiske hjælp med forsøgene. Nanett Kvist Nikolaisen og Amir Atabak Ronaghinia takkes også for at bidrage med deres viden om antibiotika resistens og kineetik. Endelig takkes Pelsdyragiftsfonden, Dansk Pelsdyravlerforenings Forskningsfond og Innovationsfonden for økonomisk støtte til projektet.

Referencer

Andersen, T.H., Clausen, T.N., Therkildsen, N., 1988. Antibiotikaudskillelse i minkmælk (Excretion of antimicrobials in mink milk). Dansk Pelsdyravl 51:367–368.

Anonymous, 2017a. CLSI M100 S27:2017 — Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 27th Edition [WWW Document]. URL <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/> (accessed 12.12.17).

Anonymous, 2017b. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [WWW Document]. URL http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf (accessed 12.12.17).

Anonymous, 2015. CLSI VET01S ED3:2015 — Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, 3rd Edition [WWW Document]. URL <https://clsi.org/standards/products/veterinary-medicine/documents/vet01s/> (accessed 12.12.17).

Birch, J.M., 2018. Diarrhea in mink kits during the pre-weaning period. PhD Thesis University of Copenhagen.

Danieu, P., Anderson, B., Maes, R., Bolin, C., Kiupel, M., 2005. "Sticky kits" syndrome in mink (*Mustela vison* L.): A secretory diarrhea associated with *Staphylococcus intermedius* colonization, in: Proceedings of the Institute for Zoo and Wildlife Research. pp. 122–123.

Englund, L., Chriél, M., Dietz, H.H., Hedlund, K.-O., 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. Vet. Microbiol. 85:1–11.

Guo, M., Evermann, J.F., Saif, L.J., 2001. Detection and molecular characterization of cultivable caliciviruses from clinically normal mink and enteric caliciviruses associated with diarrhea in mink. Arch. Virol. 146:479–493.

Jensen, V.F., Sommer, H.M., Struve, T., Clausen, J., Chriél, M., 2016. Factors associated with usage of antimicrobials in commercial mink (*Neovison vison*) production in Denmark. Prev. Vet. Med. 126:170–182.

Jørgensen, M., Scheutz, F., Strandbygaard, B., 1996. *Escherichia coli* and virus isolated from "sticky kits." Acta vet scand 37:163–169.

Nikolaisen, N.K., Lassen, D.C.K., Chriél, M., Larsen, G., Jensen, V.F., Pedersen, K., 2017. Antimicrobial resistance among pathogenic bacteria from mink (*Neovison vison*) in Denmark. Acta Vet. Scand. 59:60.

Pedersen, K., Hammer, A.S., Sørensen, C.M., Heuer, O.E., 2009. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink. Vet. Microbiol. 133:115–122.

Sledge, D.G., Danieau, P.K., Bolin, C. a, Bolin, S.R., Lim, a, Anderson, B.C., Kiupel, M., 2010. Outbreak of neonatal diarrhea in farmed mink kits (*Mustella vison*) associated with enterotoxigenic *Staphylococcus delphini*. Vet. Pathol. 47, 751–757.

Struve, T., Pesson, L., Frandsen, H.L., Clausen, T., Tuxen, R.D., Hammer, A.S., Kreilgaard, M., 2014. Rationalization of the antimicrobial use in the Danish mink (*Neovison vison*) production using pharmacokinetics, in: NJF Seminar 482. NJF (Nordisk Jorbrugs Forskning), Grenaa, Denmark, pp. 139–144. ✕

AMOXICILLIN I MINKFODER – STABILITET OG RESISTENS

Af Desiree C. K. Lassen¹, Nanett K. Nikolaisen^{1,2}, Amir A. Ronaghinia³, Peter Damborg³, Katja A. Kristensen¹, Mariann Chriél⁴, Tina Struve², Henrik L. Frandsen¹, Lars Bogø Jensen¹, Karl Pedersen⁵

¹ Fødevareinstituttet, DTU, Kemitorvet, Anker Egelundsvej 1, 2800 Kgs. Lyngby

² København Diagnostik, Langagervej 74, 2600 Glostrup

³ Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, Stigbøjlen 4, 1870 Frederiksberg C

⁴ Veterinærinstituttet, DTU, Kemitorvet, Anker Egelundsvej 1, 2800 Kgs. Lyngby

⁵ Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Ulls väg 2B, Uppsala, Sverige

Sammendrag

Bakterieinfektioner i mink behandles i reglen med antibiotika. Amoxicillin, som hyppigt anvendes, kan forekomme på pulverform og til mink opblandes dette i foderet, hvorved dyrene fodermedicineres. Med dette studium var formålet 1) at undersøge stabiliteten af amoxicillin i minkfoder ved at måle koncentrationen af stoffet henover et forløb på 24 timer, samt 2) at undersøge amoxicillins påvirkning af den bakterielle flora og forekomsten af antibiotikaresistente bakterier i foderet. Dette blev testet ved to temperaturer, 4°C og 20°C, som hhv. repræsenterer en kold vinterdag og en lun sommerdag. Studiet viste, at nedbrydningen af amoxicillin er temperaturafhængig. Efter 24 timer faldt gennemsnitskoncentrationen af amoxicillin til ca. 30% af startkoncentrationen ved 20°C, hvorimod gennemsnitskoncentrationen i foderblandingerne opbevaret ved 4°C, faldt til 75% af startkoncentrationen. 2) *Escherichia coli* og *Staphylococcus spp.* blev identificeret i foderblandingerne og testet for antibiotika sensitivitet. Halvdelen af *Escherichia coli* var tetracyklinresistente og få *Staphylococcus* var resistente overfor tiamulin og erythromycin. Dette studium viste, at 1) det er vigtigt, at de syge dyr spiser deres foderration hurtigt for at opnå den tiltænkte dosering, og 2) forekomsten af resistens i de testede bakterier fra foderet var lav, sammenlignet med tidligere studier af sygdomsfremkaldende bakterier fra mink.

Lassen, D C K., Nikolaisen, N K., Ronaghinia, A A., Damborg P., Kristensen, K A., Chriél, M., Struve, T., Frandsen, H L., Jensen, L B., Pedersen, K. 2019. Stabiliteten af amoxicillin i foder. Faglig Årsberetning 2018, 132-135. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Mink, amoxicillin, stabilitet, foder, antibiotikaresistens

Abstract

Bacterial infections in mink are usually treated with antibiotics. Amoxicillin can be prescribed as a powder for

oral administration and mixed into the feed. The aim of this study was 1) to investigate the stability of amoxicillin in mink feed within 24 hours, and 2) to investigate if it influences the bacterial composition and the occurrence of antibiotic resistant bacteria in the feed. Both aims were tested at two temperatures; 4°C and 20°C, representing a cold winter day and a warm summer day. The study showed that the concentration of amoxicillin is temperature dependent. After 24h the concentration of amoxicillin decreased to app. 30% of the initial concentration at 20°C, whereas the concentration decreased to 75% of the initial concentration at 4°C. *Escherichia coli* and *Staphylococcus spp.* were identified in the feed mixtures and further tested for antibiotic sensitivity. Half of the *Escherichia coli* were tetracycline resistant and a few *Staphylococcus* were resistant against tiamulin and erythromycin. This study demonstrated 1) the importance of sick animals eating their ration of feed mix within few hours, to obtain the intended therapeutic antibiotic dosage and 2) the occurrence of antibiotic resistance in the tested bacteria was low, compared to previous studies on pathogenic bacteria from mink.

Lassen, D C K., Nikolaisen, N K., Ronaghinia, A A., Damborg P., Kristensen, K A., Chriél, M., Struve, T., Frandsen, H L., Jensen, L B., Pedersen, K. 2019. The stability of amoxicillin in feed. Annual Report 2018, 132-135. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Mink, amoxicillin, stability, feed, antibiotic resistance

Indledning/Baggrund

Ved bakterielle infektioner i mink behandles dyrene ofte med antibiotika, og i den danske minkavl tilhører størstedelen af de anvendte antibiotikapræparater gruppen aminopenicilliner (Nikolaisen et al., 2017a). Forbruget af antibiotika varierer i løbet af året, men generelt forekommer størstedelen af forbruget af aminopenicillinerne i maj og juni måned (Nikolaisen et al., 2017a).

Escherichia coli (*E. coli*) (kan give tarmbetændelse, lungebetændelse, yverbetændelse eller blodforgiftning) og *Staphylococcus spp.* (kan give lungebetændelse, yverbetændelse eller sår- og hudinfektioner) er to eksempler på sygdomsfremkaldende bakterier, der ofte findes hos mink. *E. coli* kan behandles med aminopenicilliner, herunder ampicillin og amoxicillin, dersom de er følsomme. Tidligere studier har imidlertid vist, at der findes et højt niveau af ampicillinresistente *E. coli* i dansk minkavl. For *E. coli* og *Staphylococcus spp.* ses ofte også høje resistensniveauer overfor tetracyklin (Nikolaisen et al., 2017a, Pedersen et al., 2009).

I dag findes der ingen behandlingsvejledning for antibiotika til mink. Derfor baseres doseringsregimerne for mink på data fra andre produktionsdyr og/eller dyrearter, både ved fodermedicinering og ved injektion. Aminopenicillinet amoxicillin anvendes hyppigt på farmene (DANMAP, 2017). Octacillin Vet. (amoxicillin trihydrat) er et eksempel på et præparat godkendt til behandling af svin ved opblanding i drikkevand. Præparatet bruges off-label til medicinering af mink, hvor det typisk opblandes i foder og tildeles alle mink i en eller flere haller (Birch et al., 2019).

Med dette studium var formålet 1) at undersøge stabiliteten af amoxicillin opblandet i foder og vurdere betydningen af tid og temperatur på nedbrydning af præparatet, samt 2) at undersøge forekomst og resistens af *E. coli* og *Staphylococcus spp.* i foderet.

Materiale og metoder

I dette studium blev Octacillin Vet. (amoxicillin trihydrat) testet i frisk foder fra en dansk fodercentral. Octacillin Vet. er et pulver til anvendelse i drikkevandet og er godkendt til behandling af svin. Foderet var friskt og blev anvendt i forsøget morgenen efter at foderbatchen var blevet fremstillet. Octacillin Vet. blev opløst i vand og derefter opblandet i foderet, hvilket afspejler medicineringsproceduren i minkproduktionen. Den anvendte dosis var 30 mg Octacillin Vet. pr. kg legemsvægt pr. dag, tilsvarende den anbefalede dosis til svin angivet i produktkataloget (Dechra Veterinary Products, 2018).

Seks forsøgsblandinger á 150 g foder iblandet 30 mg amoxicillin blev udportioneret. Tre forsøgsblandinger blev opbevaret ved 4°C og tre ved 20°C. To portioner kontrolfoder bestående af 150 g foder uden tilsat amoxicillin blev tilsvarende opbevaret ved henholdsvis 4°C og 20°C.

1) Stabiliteten af amoxicillin i foder

Til kemisk bestemmelse af amoxicillin i foderet blev der for hver forsøgsblanding udtaget én prøve á 1g, fra midten af forsøgsblandingen, ved fem forskellige tidspunkter. Prøverne blev taget 0, 1, 5, 12 og 24 timer efter opblandingen af Octacillin Vet. i foderet. Derudover blev der inkluderet prøver fra kontrolfoderet. I alt involverede den kemiske del af studiet 32 prøver: Femten prøver fra de tre foderblandinger ved 20°C, femten prøver fra de tre foderblandinger ved 4°C, og to prøver fra kontrolfoderet. Koncentrationen af amoxicillin blev bestemt ved masse spektrometri (LC/MS) (Julie Birch, personlig kommunikation). Gennemsnitskoncentrationen blev beregnet ved alle fem tider (0, 1, 5, 12, 24 timer) for 4°C og 20°C. Det blev undersøgt hvorvidt gennemsnitskoncentrationerne af amoxicillin var signifikant aftagende med tiden, ved simpel lineær

regression i R software (R Core Team, 2013). Derudover blev det testet, om der var signifikant forskel mellem gennemsnitskoncentrationerne ved 4°C og 20°C ved t-test i R software (R Core Team, 2013). Signifikansniveauet blev sat til 5%.

2) Forekomst af resistente bakterier i foder

Fra de seks forsøgsblandinger og kontrolfoderet blev der yderligere udtaget prøver á 1g fra midten af forsøgsblandingerne til bakteriologisk undersøgelse. Første prøve blev udtaget inden Octacillin Vet. blev opblandet i foderet og derefter 1, 5, 12 og 24 timer efter opblanding. Disse blev dyrket ved 37°C på MacConkey agar til isolering af *E. coli* og på Colombia agar med 5% kalveblod til *Staphylococcus spp.* isolering. Karakteristiske bakteriekolonier blev identificeret ved matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). Bakterieisolaterne blev testet for antimikrobiel sensitivitet ved brug af SensiTitre (Trek Diagnostic System Ltd., UK). Efter 18-20 timers inkubation ved 37°C blev minimum inhibitions koncentrationen (MIC) aflæst. Resistensbestemmelserne er baseret på breakpoints anvendt i Nikolaisen et al. (2017a).

Resultater

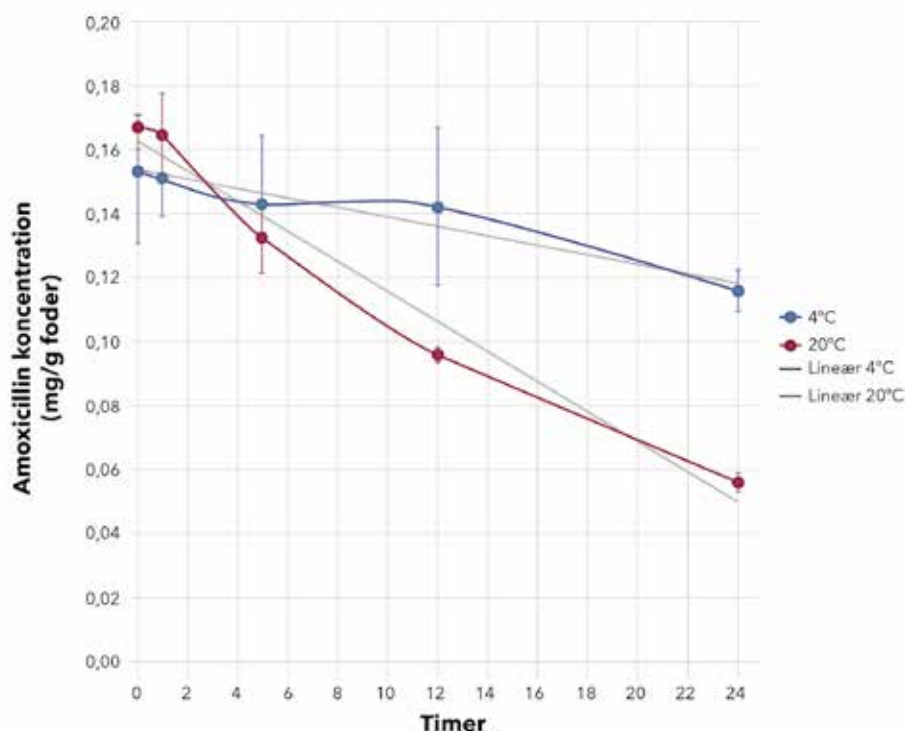
1) Stabiliteten af amoxicillin i foder

Studiet viste, at stabiliteten af amoxicillin i minkfoder både er tids- og temperatur afhængig. Ved begge temperaturer var koncentrationen af amoxicillin lavere efter 24 timer i forhold til startkoncentrationen (Figur 1). Ved lineær regression viste koncentrationen af amoxicillin sig at være signifikant aftagende med tiden (4°C: $P = 0,01$, 20°C: $P = 0,001$) og at falde ca. tre gange så hurtigt ved 20°C i forhold til ved 4°C (4°C: $-0,0015\text{mg/g pr. time}$, 20°C: $-0,0047\text{mg/g pr. time}$). I forsøgsblandingerne opbevaret ved 4°C var den gennemsnitlige startkoncentration af amoxicillin $0,15\text{mg/g}$ [0,13;0,17]min;max og den var $0,17\text{mg/g}$ [0,16;0,17]min;max ved 20°C (Figur 1). Efter 5 timer var gennemsnitskoncentrationen $0,14\text{mg/g}$ ved 4°C, hvorved 93% af den gennemsnitlige startkoncentration var tilbage. Efter 24 timer var gennemsnitskoncentrationen $0,12\text{mg/g}$ [0,11;0,12]min;max og den var dermed faldet til 75% af den oprindelige gennemsnitskoncentration. I forsøgsblandingerne opbevaret ved 20°C var gennemsnitskoncentrationen $0,13\text{mg/g}$ efter 5 timer, tilsvarende 79% af den gennemsnitlige startkoncentration. Kun 34% var tilbage ved sidste måling (Figur 1), hvor gennemsnitskoncentrationen var $0,06\text{mg/g}$ [0,05;0,06]min;max. Efter 24 timer var der signifikant forskel mellem amoxicillin koncentrationerne i forsøgsblandingerne ved 4°C og 20°C ($P = 0,0002$).

2) Forekomst af resistente bakterier i foder

Toogtredive *E. coli* isolater blev identificeret og sensitivitetstestet. Halvtreds % af *E. coli* isolaterne var resistente overfor tetracyklin. Tretten tetracyklinresistente *E. coli* var identificeret fra forsøgsblandingerne med amoxicillin og kun tre fra kontrolfoderet uden amoxicillin. Derudover var et enkelt bakterieisolat resistent overfor colistin. Resistensniveauet for *E. coli* overfor de andre testede præparater var generelt meget lavt (Tabel 1).

Fjorten *Staphylococcus spp.* isolater blev identificeret og sensitivitetstestet. Iblandt disse blev der fundet et lavt niveau af resistens (Tabel 2). En enkelt *Staphylococcus spp.* isoleret fra kontrolfoder, var dog erythromycin- og tiamu-



FIGUR 1 DEN GENNEMSNITLIGE KONCENTRATION AF AMOXICILLIN, BESTEMT VED MASSE SPEKTROMETRI (LC/MS) I FORSØGSBLANDINGERNE, MÅLT VED TIDERNE 0, 1, 5, 12 OG 24 TIMER. DEN BLÅ KURVE REPRÆSENTERER FORSØGSBLANDINGERNE OPBEVARET VED 4°C OG DEN RØDE KURVE VED 20°C. STANDARDAFVIGELSERNE ER ANGIVET FOR HVER MÅLING OG BEDSTE RETTE LINJE FOR HVER KURVE.

lin resistent. Derudover, var to *Staphylococcus spp.* isolater resistente over for tiamulin. Disse var også isoleret fra kontrollfoder.

Diskussion

1) Stabiliteten af amoxicillin i foder

Da syge mink ofte behandles ved fodermedicinering, er det relevant at vide, hvor stabil medicinen er i foderet. Dette studium viste at koncentrationen af amoxicillin faldt signifikant indenfor 24 timer, og at opbevaringstemperaturen havde stor indflydelse på, hvor hurtigt nedbrydningen skete. I løbet af de første 12 timer var amoxicillin væsentligt mere stabilt ved 4°C i forhold til ved 20°C, og efter 24 timer var gennemsnitskoncentration dobbelt så høj i foderblandingerne opbevaret ved 4°C som ved 20°C, henholdsvis 0,12 mg/g foder og 0,06 mg/g foder (Figur 1). Dette indikerer, at amoxicillin som fodermedicinering med fordel kan anvendes på de køligste tidspunkter af dagen med henblik på at opretholde en stabil koncentration, og eventuelt i relativt små foderportioner for at sikre indtaget af hele foderblandingen indenfor kort tid. I praksis står vi dog overfor flere udfordringer. For eksempel vil der ofte i forbindelse med sygdom være nedsat appetit hos dyrene, hvormed det er usikkert, hvorvidt de får ædt hele deres foderration, indenfor det tidsrum hvor koncentrationen af amoxicillin forventes at være stabil. Dette kan betyde at dyrene ikke opnår tiltænkt dosering.

2) Forekomst af resistente bakterier i foder

Resistensmønstre for sygdomsfremkaldende bakterier hos mink, herunder *E. coli* og *Staphylococcus spp.*, er tidligere beskrevet (Nikolaisen et al., 2017a, Pedersen et al., 2009). I disse studier viste danske kliniske *E. coli* et højt resistensniveau for ampicillin, sulfamethoxazol, tri-

methoprim og tetracyclin (Tabel 1). I dette studium var *E. coli* isolaterne hverken resistente overfor aminopenicilliner (ampicillin eller amoxicillin i kombination med klavulansyre), sulfonamider eller trimethoprim, men 50% var tetracyclinresistente. Et enkelt *E. coli* isolat var resistent overfor colistin, hvilket er sjældent forekommende hos mink (Nikolaisen et al., 2017a, Pedersen et al., 2009, Vulfson et al., 2001). I dette studium var få *Staphylococcus spp.* isolater resistente overfor tiamulin, og en enkelt var resistent overfor både tiamulin og erythromycin (Tabel 2). Tidligere studier har fundet lave resistensniveauer hos *Staphylococcus spp.* overfor tiamulin (Nikolaisen et al., 2017a). Derimod findes *Staphylococcus spp.* fra mink i højere grad resistente overfor erythromycin og andre præparater såsom tetracyclin, penicillin, chloramphenicol, men det var ikke tilfældet i dette studie. Overordnet viste de testede *E. coli* og *Staphylococcus spp.* fra dette studium en meget lav forekomst af resistens sammenlignet med kliniske isolater fra tidligere resistensstudier (Nikolaisen et al., 2017a, Pedersen et al., 2009). Dette studium indikerer derfor, at det testede foder ikke bidrager med resistente bakterier på minkfarme, heller ikke under selektionspresset af det tilsatte amoxicillin. Resultaterne bør underbygges af et fremtidigt større studium.

Konklusion

I dette studium viste *E. coli* og *Staphylococcus spp.*, identificeret fra foderet, generelt et lavt resistensniveau overfor antimikrobielle præparater, hvor der tidligere er fundet et højt niveau af resistens for kliniske sygdomsfremkaldende bakterier i mink. Derudover viste studiet, at koncentrationen af amoxicillin i foder var faldende over tid, dog var stoffet mere stabilt i foder opbevaret ved 4°C frem for 20°C. Resultaterne fra dette studium bør underbygges

TABEL 1 MIC FORDELINGER OG FOREKOMST AF RESISTENS FOR *E. COLI* (N=32). VERTIKALE LINJER REPRÆSENTERER BREAKPOINTS FOR RESISTENS ANVENDT AF NIKOLAISEN ET AL. (2017A). HVIDE FELTER AFSPEJLER TESTINTERVALLET AF ANTIBIOTIKAKONCENTRATIONER. I TILFÆLDE AF INGEN VÆKST, ER MIC-VÆRDIEN ANFØRT SOM DEN LAVESTE KONCENTRATION I TESTRÆKKEN. R% ANGIVER ANDELEN AF RESISTENTE BAKTERIEISOLATER I PROCENT FOR DETTE STUDIE OG AF KLINISKE *E. COLI* AFRAPPORTERET I FAGLIG ÅRSBERETNING 2017 AF NIKOLAISEN ET AL. (2017B).

Koncentrationen af antimicrobielt stof, MIC (µg/ml)																	Foderstudie	Nikolaissen et al.
	0.015	0.031	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2018	2017
																	R%	%R
Amox + clav							5	25	2								0	1
Ampicillin							15	16	1								0	65.6
Colistin						31		1									3	0.3
Sulfamethoxazol												32					0	53.9
Tetracyklin							16			16							50	41.6
Trimethoprim						28	4										0	32.5

TABEL 2 MIC FORDELINGER OG FOREKOMST AF RESISTENS FOR *STAPHYLOCOCCUS SPP.* (N=14). VERTIKALE LINJER REPRÆSENTERER BREAKPOINTS FOR RESISTENS AF NIKOLAISEN ET AL. (2017A). HVIDE FELTER AFSPEJLER TESTINTERVALLET AF ANTIBIOTIKAKONCENTRATIONER. I TILFÆLDE AF INGEN VÆKST, ER MIC-VÆRDIEN ANFØRT SOM DEN LAVESTE KONCENTRATION I TESTRÆKKEN. VED VÆKST I HELE TESTRÆKKEN ER MIC-VÆRDIEN PLACERET I DET GRÅ FELT. R% ANGIVER ANDELEN AF RESISTENTE BAKTERIEISOLATER I PROCENT FOR DETTE STUDIE OG AF KLINISKE *STAPHYLOCOCCUS SPP.* AFRAPPORTERET I FAGLIG ÅRSBERETNING 2017 AF NIKOLAISEN ET AL. (2017B).

	Koncentrationen af antimicrobielt stof, MIC (µg/ml)															Foderstudie		Nikolaissen et al.	
	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2018 R%	2017 %R		
Chloramphenicol							5	9								0	49		
Erythromycin			10	2	1					1						7	17		
Spectinomycin										10	4					0	93		
Streptomycin							14									0	25		
Sulfamethoxazole										14						0	94		
Tetracyklin				14												0	51		
Tiamulin		1	3	4	2	1				1	2					21	4		

af en større undersøgelse. Dette studium understreger vigtigheden af at de syge dyr spiser hele deres foderration med amoxicillin indenfor få timer, særligt i årets varme perioder, for at opnå den tiltænkte dosering. Fodermedicinering på kølige tidspunkter af dagen, samt tildeling af mindre foderrationer med amoxicillin ad gangen, kan bidrage til hurtig optagelse af foderet mens der er høj amoxicillinkoncentration.

Referencer

Birch, J. M., Frandsen, H. L., Struve, T., Agger, J. F., Jensen, H. E. 2019. Transfer of amoxicillin to suckling mink (*Neovison vison*) kits via the milk from dams treated orally or intra-muscularly. Research in Veterinary Science 123, 47-50. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.12.008

DANMAP. 2018. DANMAP 2017 – Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. Available at: <https://www.danmap.org/~media/Projekt%20sites/Danmap/DANMAP%20reports/DANMAP2017/Danmap2017.aspx> (Accessed: 30 October 2018)

Dechra Veterinary Products. 2018. Octacillin Vet. Available at <http://ivepps.dk/VisProdukt.asp?BrugerID=%7BC781FA12-0FC7-41F0-A8E1-91935B528487%7D&ProduktID=906&antal=401> [Accessed: 10 October 2018].

Nikolaissen, N K., Chriél, M., Struve, T., Jensen, V F., Larsen, G., Pedersen, K. 2017b. Antimikrobielle stoffer: Forbrug og resistensmønstre. Annual Report 2017, 83-88. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Nikolaissen, N. K., Lassen, D. C. K., Chriél, M., Larsen, G., Jensen, V. F., Pedersen, K. 2017a Antimicrobial resistance among bacteria from mink (*Neovison vison*) in Denmark. Acta Veterinaria Scandinavica, 59:60. doi: 10.1186/s13028-017-0328-6.

Pedersen K., Hammer A. S., Sørensen, C. M., Heuer O. E. 2009. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink. Veterinary Microbiology 133, 115-122. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.06.005

R Core Team. 2013. R: A Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

Vulfson, L., Pedersen, K., Chriél, M., Frydendahl, K., Andersen, T. H., Madsen, M., Dietz, H. H. 2001. Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark. Veterinary Microbiology 79, 143-153. doi: 10.1016/S0378-1135(00)00343-6 ✖

EKSPERIMENTEL EKSPONERING AF MINK MED MRSA I FODERET

Af Mette Fertner¹, Mariann Chriél¹ og Karl Pedersen²

¹Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitorvet 204, 2800 Kgs Lyngby, Danmark

²Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Ulls väg 2B, Uppsala, Sverige

Sammendrag

Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* CC398 (husdyr-MRSA) findes i ca 40 % af de danske minkgårde. Kontamineret slagteriaffald, som bruges i produktionen af minkfoder menes at være den mest sandsynlige smittevej.

Vi gennemførte en eksperimentel longitudinal undersøgelse, hvor 24 MRSA-negative mink blev eksponeret (spiket) for husdyr-MRSA i foderet ($5,1 \times 10^8$ cfu/mink) i fem dage. Yderligere fire mink fungerede som negative kontroldyr og blev fodret med foder der var negativt for husdyr-MRSA. Et døgn efter opstart af foderspikede testede alle potesvabere fra både de 24 spikede mink og de 4 negative kontrol-mink, positive for husdyr-MRSA. På dag 31 i forsøgsperioden, 26 dage efter ophørt foderspikede, kunne husdyr-MRSA delvist genfindes på poter (11/28) og i svælg (9/28) af minkene.

Resultaterne fra studiet bekræfter hypotesen om at husdyr-MRSA i foderet kan overføres til poter og svælg af eksponerede mink, og forblive på minkene i mere end 26 dage efter det kontaminede foder er fjernet. Ydermere demonstrerer undersøgelsen muligheden for horisontal spredning af husdyr-MRSA mellem nabomink da også kontrol dyrene fik påvist husdyr-MRSA.

Fertner, M., Pedersen, K., Chriél, M., 2019. Eksperimentel eksponering af mink med MRSA i foderet. Faglig Årsberetning 2018, 136-138. København Forskning. Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Husdyr methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*, CC398, foderforsøg, bakteriel persistens

Abstract

Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) has been found in approximately 40 % of Danish mink farms, hypothesized to be a spill-over from the pig production where the bacterium is widely distributed. Contaminated slaughter offal used in the production of mink feed is considered the most likely route of transmission.

We performed a longitudinal experimental study where 24 naïve mink were exposed to LA-MRSA-contaminated feed ($5,1 \times 10^8$ cfu/mink) for five days. Four mink were retained as negative controls receiving LA-MRSA-negative feed. Twenty-four hours after initiation of spike, all 28 mink, including the four negative control mink, tested LA-MRSA-positive by paw swabs. At day 31 in the study period, 26 days after LA-MRSA-positive feed was ceased, the bacterium could be re-isolated from paws (11/28) and pharynx (9/28) of mink.

Results from the present study demonstrate that LA-MRSA in feed can be re-isolated from paws and pharynx of exposed mink and may persist on both anatomical sites for more than 26 days. In addition, the results indicate the potential of the bacterium to spread directly between neighboring mink or through contaminated surfaces.

Fertner, M., Pedersen, K., Chriél, M., 2019. Experimental exposure of mink with MRSA supplemented feed. Annual Report 2018, 136-138. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CC398, feed spike, bacterial persistence

Introduktion

Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* tilhørende Clonal Complex 398 (husdyr-MRSA) kan findes i svælg og på poter af klinisk raske mink. I 2015, blev ca 40% (20/50) af danske minkgårde fundet positive for husdyr-MRSA (Hansen et al., 2017). På positive gårde findes bakterien hos 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%} af minkene og er vidt udbredt i miljøet på gårdene (Fertner et al., In Press).

Husdyr-MRSA er udbredt i svineproduktionen, hvor knap 90 % af de danske svinebesætninger var positive i 2016 (DANMAP, 2017). Det formodes, at husdyr-MRSA overføres via ikke-varmebehandlede biprodukter fra svin anvendt i minkfoder. Tre fund peger i denne retning. For det første, kan husdyr-MRSA isoleres fra anatomiske steder

på minkene, som er i nær kontakt med foderet (poter og svælg). For det andet, er de hyppigst forekommende *spatyper* identiske hos mink og svin (t034 og t011). For det tredje, blev bakterien i 2016 fundet i 19% (20/108) af danske minkfoder prøver (Hansen et al., 2017).

Formålet med dette infektionsstudium var at undersøge hvorvidt husdyr-MRSA kunne genfindes på poter og i svælg hos naïve mink efter eksponering for husdyr-MRSA-positivt foder. Derudover ønskede vi at undersøge om bakterien persisterer på minkene hvis tildelingen af kontamineret foder ophører og hvorvidt flytning af smittede mink til et rent staldmiljø har betydning på persistensen af bakterien.

Materiale og metoder

Forsøget blev gennemført i to separate testrum hver med 14 forbundne spring-op bure i forsøgsfaciliteterne på Lindholm Ø, DTU Veterinærinstituttet, november-december 2017. Rummene var fysisk adskilte fra hinanden. Der var sluse med tøjskift i indgangen til begge rum. Temperaturen blev holdt på 15°C og luftfugtigheden på 75%.

Ved forsøgets start blev alle 28 brune mink (14 hunner og 14 hanner) indsat parvis i ét testrum. Alle mink fik svabret poter med en steril fugtig klud (SodiBox), for at bekræfte husdyr-MRSA-fri status ved undersøgelsens start. Minkfoderet blev varmebehandlet til 60°C kernetemperatur og efterfølgende testet for at bekræfte husdyr-MRSA-fri status.

Til spiket lavede vi en bakterie-bouillon af husdyr-MRSA med en koncentration på $3,4 \times 10^8$ cfu/ml. Vi anvendte en husdyr-MRSA CC398 fra L3-clusteret, som tidligere var blevet isoleret fra svælg af en mink (Fertner et al., In Press). I det efterfølgende omtales isolatet blot som husdyr-MRSA. Umiddelbart inden udfodring blev bouillonon iblandet foderet i en koncentration af 1 ml/100 g foder, svarende til $3,4 \times 10^6$ cfu/g. Hvert bur á to mink blev tildelt 300 g foder, svarende til en gennemsnitlig tildeling på $5,1 \times 10^8$ cfu/mink. Bakteriebouillonon blev udfodret i en delmængde af foderet, hvorefter minkene fik tildelt den resterende mængde foder. Fire mink i de to yderste bure blev holdt som negative kontroller og blev ikke tildelt husdyr-MRSA. De resterende 12 par mink blev fodret med husdyr-MRSA-positivt foder i fem dage.

Minkene blev efter de fem dages foderspike fodret med husdyr-MRSA-negativt foder i den resterende del af forsøgsperioden. Syv dage efter opstart af forsøget, tre dage efter endt spike, blev halvdelen af minkene, skiftevis en hun og en han fra hvert bur, flyttet til et separat rent staldafsnit. Dette blev gjort for at kunne vurdere forskellen i persistens af husdyr-MRSA mellem mink i det rene og det kontaminerede staldafsnit. Herefter gik alle mink enkeltvis i burene.

Alle mink fik svabret poter tre gange ugentligt, med start 24 timer efter påbegyndt foderspike og indtil 26 dage efter endt spike. Minkene blev enkeltvis fanget og fik svabret begge forpoter med en steril klud (SodiBox). Kluden blev genindsat i den oprindelige pose, lukket og transporteret til laboratoriet. Prøveudtagning blev foretaget af samme person gennem hele forløbet, som skiftede handsker

mellem hver mink. Ved afslutning af studiet blev alle mink aflivet, hvorefter der blev udtaget en svælgsvaber af kadaveret og højre forpote blev dissekeret ved karpalledet.

I laboratoriet blev klude, svælgsvabere og poter undersøgt for tilstedeværelse af husdyr-MRSA. Prøverne blev tilsat henholdsvis 100, 3 og 30 ml Mueller-Hinton bouillon med 6,5% NaCl for selektiv opformering. Klude fra potesvabere blev yderligere stomachet 30 sekunder ved 230 rpm (Stomacher 400 circulator, Seward) for at ekstrahere aftørret materiale i bouillonon. Alle prøver blev inkuberet 18-24 timer ved 37°C, hvorefter 10 µl bouillon blev udsat på selektiv indikativ Brilliance™ MRSA2 agar plader (Oxoid) og yderligere inkuberet 18-24 timer ved 37°C. Herefter blev suspekte *Staphylococcus aureus* kolonier verificeret ved matrix-assisted laser desorption ionisation (MALDI-TOF mass spectrometry). Til test for signifikant forskel i forekomst af husdyr-MRSA mellem køn og test-rum, for både pote og svælgsvaber, anvendte vi en Fisher's exact test.

Resultater

Et døgn efter udfodring med husdyr-MRSA i foderet kunne bakterien genfindes på poterne af alle 28 mink; både de 24 forsøgsmink og de 4 negative kontrolmink. Alle mink forblev positive en uge. På denne dag blev halvdelen af dyrene flyttet til et rent testrum. Minkene i begge testrum rensede sig gradvist indtil projektets afslutning på dag 31, 26 dage efter husdyr-MRSA foderkilden blev fjernet.

Ved projektets afslutning blev minkene aflivet og undersøgt post mortem for tilstedeværelsen af husdyr-MRSA på poter og ved svælgsvabere. Hos mink som forblev i det kontaminerede testrum fandtes husdyr-MRSA på 7/14 poter og 3/14 svælgsvabere, mens der hos mink i det rene testrum fandtes husdyr-MRSA i 4/14 poter og i 6/14 svælgsvabere. Der sås ingen kliniske infektioner hos minkene i løbet af forsøgsperioden.

Vi fandt ingen signifikant forskel i forekomsten af husdyr-MRSA mellem rum for hverken pote ($p=0,44$) eller svælgsvabere ($p=0,42$). Til gengæld fandt vi signifikant forskel mellem køn ($p=0,02$) i andelen af husdyr-MRSA positive poter (hanner 9/14, hunner 2/14), mens der ikke var forskel ($p=0,42$) med hensyn til svælgsvabere (hanner 6/14, hunner 3/14).

Diskussion

Resultater fra studiet bekræfter hypotesen om at husdyr-MRSA kan overføres til mink via foderet. Et døgn efter opstart af spike fandtes potesvabere fra både eksponerede (24) og negative kontrolmink (4) positive. Resultaterne peger således i retning af at husdyr-MRSA også kan spredes horisontalt, enten ved direkte kontakt mellem mink i nabobure eller via kontaminerede miljøoverflader.

I dette studium blev samtlige mink positive efter fodring med husdyr-MRSA-positivt foder. Andelen af positive mink var således langt højere end i feltundersøgelser på positive minkgårde, hvor 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%} af minkene er fundet som bærere af bakterien (Fertner et al., In Press). En forklaring på denne 100% infektionsrate kan findes i de høje koncentrationer af husdyr-MRSA, som minkene i forsøgsfaciliteterne blev udsat for [$5,1 \times 10^8$ cfu/

mink). Det er uvist i hvilke koncentrationer husdyr-MRSA forefindes i kommercielt minkfoder, eftersom kvantitative studier af husdyr-MRSA er sparsomme. Ligeledes er infektionsdosis hos mink ukendt. Begge faktorer er af højeste relevans i forhold til at identificere faktorer som har betydning for etablering af husdyr-MRSA i et minkhold.

Resultaterne fra denne undersøgelse indikerer at minke- ne rensede sig gradvist for bakterien, efter ophørt udfodring af positivt foder. Ved afslutning af forsøgsperioden, 26 dage efter ophørt foderspise, kunne husdyr-MRSA isoleres fra 11/28 (40%) af minkene. Det er tidligere blevet påvist, at husdyr-MRSA er udbredt i miljøet på positive gårde (Fertner et al., In Press). Eliminering af smitekilden er derfor ikke tilstrækkelig til at komme bakterien til livs. Grundig rengøring af faciliteterne er således også nødvendig.

Hos han mink fandtes signifikant flere husdyr-MRSA positive poter, i forhold til hun-mink, muligvis på grund af større poteoverflade, eller større foderindtag. Forekomsten af husdyr-MRSA på poter forventes i langt højere grad end svælgsvabere at blive påvirket af bakteriebyrden i miljøet. Således fandtes ved afslutning af studiet næsten dobbelt så mange poter husdyr-MRSA positive fra mink, der var forblevet i det kontaminerede rum (7/14), sammenlignet med poter fra mink, der var flyttet over i det rene rum (4/14). Forskellen var dog ikke signifikant, sandsynligvis på grund af for få observationer.

På trods af den høje koncentration af husdyr-MRSA tilsat foderet, udviste ingen mink kliniske symptomer. Det er endnu uvist hvorvidt mink koloniseres eller blot er bærere af bakterien. Tidligere undersøgelser har vist tegn på en mulig mink-relateret klon, hvilket kunne indikere at visse husdyr-MRSA-typer har potentialet til at kolonisere mink (Hansen, 2017). Dette ville dog kræve yderligere studier i form af at undersøge bakteriel multiplikation.

Konklusion

Resultater fra denne undersøgelse bekræftede at husdyr-MRSA kan overføres til mink via foder, men at minkene gradvist renser sig for bakterien, hvis udfodring af kontamineret foder ophører. Yderligere viste undersøgelsen, at husdyr-MRSA kan sprede sig mellem mink på gården, enten ved direkte kontakt mellem bure eller i form af miljøsmittede overflader.

Tak

Projektet blev finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden 2017, Landbrugsstyrelsen (bevilling nr. 33010-NIFA-14-612), og Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet.

Tak til dyrepasser Henrik Andersen og Heidi Lehman for hjælp i forsøgsdyrsstaldene på Lindholm ø og laborant Margrethe Carlsen for hjælp i laboratoriet.

Referencer

DANMAP, 2017. DANMAP 2016 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. https://danmap.org/~media/Projekt%20sites/Danmap/DANMAP%20reports/DANMAP%202016/DANMAP_2016_web.ashx

Fertner, M., Pedersen, K., Jensen, V. F., Larsen, G., Lindegaard, M., Hansen, J. E., Chriél M. Within-farm prevalence and environmental distribution of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Danish farmed mink (*Neovison vison*). Vet. Microbiol. (In Press). <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.02.032>.

Hansen, J.E. 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Danish production animals. PhD afhandling. Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kgs Lyngby, Danmark.

Hansen, J.E., Larsen, A.R., Skov, R.L., Chriél, M., Larsen, G., Angen, Ø., Larsen, J., Lassen, D.C.K., Pedersen, K., 2017. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is widespread in farmed mink (*Neovison vison*). Vet. Microbiol. 207, 44–49. doi:10.1016/j.vetmic.2017.05.027. ✕

Sundhed og Sygdom

FOREKOMST AF MRSA I MINK OG MILJØ PÅ DANSKE MINKGÅRDE

Af Mette Fertner, Vibeke Frøkjær Jensen, Gitte Larsen, Mikkel Lindegaard, Julie Elvekær Hansen, Mariann Chriél
Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Kemitovet 204, 2800 Kgs Lyngby, Danmark
Karl Pedersen, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Ulls väg 2B, Uppsala, Sverige

Sammendrag

Husdyr-MRSA er en bakterie, som er resistent overfor hyppigt anvendte antibiotika og kan være årsag til infektioner hos både dyr og mennesker. Vi undersøgte forekomsten af husdyr-MRSA på mink kadavere og i miljøprøver fra fem danske minkgårde i maj-september 2017. På én gård fandtes alle indsendte kadavere negative, mens 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%} af minkene i de resterende fire gårde fandtes positive for husdyr-MRSA. Bakterien blev desuden isoleret fra ikke-fravænnede hvalpe, hvilket tyder på at bakterien kan overføres direkte fra hunnen eller via et kontamineret miljø. I de fire gårde med husdyr-MRSA-positive mink var bakterien også hyppigt forekommende i miljøet og kunne isoleres fra alle testede miljø-nicher (foder, handsker, bure, redekasser), med undtagelse af luftprøver. De negative luftprøver er en modsat tendens end hvad ses i svinebesætninger, hvor bakterien findes i høje koncentrationer. I forhold til de anatomiske steder hvorfra bakterien isoleres fra minkene (poter og svælg), bør avlere være opmærksomme på risikoen for husdyr-MRSA ved bid og krads under håndteringen af mink.

Fertner, M., Pedersen, K., Jensen V.F., Larsen, G., Lindegaard, M., Hansen, J.E., Chriél, M., 2019. Forekomst af MRSA i mink og miljø på danske minkgårde. Faglig Årsberetning 2018, 139-143. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: Husdyr associeret methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*, CC398, dyre-prævalens, miljø-reservoir

Abstract

Livestock-associated MRSA (LA-MRSA) is a bacterium resistant towards commonly used antimicrobials, and it is able to cause infections in humans and animals. In the present study, the aim was to identify the animal prevalence and environmental reservoir of LA-MRSA on-farm, based on carcasses and environmental swabs from five Danish mink farms, collected during May-September 2017.

On one farm, LA-MRSA could not be isolated from the animals, while the bacterium was isolated from mink on four farms, found in 20% [13;29]_{C195%} to 29% [22;38]_{C195%} of the animals. The bacterium was isolated from non-weaned whelps, indicating a direct transmission from the dam or from a contaminated environment. On the four farms with LA-MRSA-positive mink, the bacterium was further isolated from all tested environmental sites (feed, glove, cages, nest boxes), except air. Negative air samples are in contrast to swine production, where LA-MRSA is found in high concentrations. Due to the anatomical location of the bacterium on mink (paws and pharynx), farmers should be aware of the risk of LA-MRSA through bites and scratches in the handling of mink.

Fertner, M., Pedersen, K., Jensen V.F., Larsen, G., Lindegaard, M., Hansen, J.E., Chriél, M., 2019. Prevalence of MRSA in mink and environmental sites on Danish mink farms. Annual Report 2018, 139-143. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: Livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CC398, animal prevalence, environmental reservoir

Introduktion

Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* er en bakterie (MRSA), som har udviklet resistens overfor penicilliner og cephalosporiner, som er vigtige antibiotika i behandling af mennesker. I senere år er der udviklet en særlig variant af MRSA, husdyr-MRSA, som knytter sig til produktionsdyr. Husdyr-MRSA tilhører genetisk det Clonale Complex 398 (CC398), som ydermere er resistent overfor tetracykliner og zink.

Husdyr-MRSA kan, ligesom andre MRSA, forårsage humane infektioner såsom sår-, bløddelsinfektioner og sjældnere blodforgiftninger (van Cleef et al., 2011). For at minimere forekomsten af MRSA i sundhedssystemet, tages visse forholdsregler når personer med øget risiko får kontakt med hospitalssystemet. Således anses personer,

KADAVERPØRVER



MILJØPØRVER



FIGUR 1 UDTAGNING AF KADAVER- OG MILJØPØRVER MED HENBLIK PÅ UNDERSØGELSE FOR HUSDYR-MRSA I FEM DANSKE MINKGÅRDE, MAJ-SEPTEMBER 2017. A) UDTAGNING AF SVÆLGSVABER. B) POTE AFSKÆRES VED KARPAL-LEDDET. C) AFTØRRING AF OVERFLADE AF BURENE MED STERIL KLUD. D) AFTØRRING AF MELLEMRUM MELLEM FAG AF BURE MED STERIL KLUD.

som dagligt arbejder med svin eller mink, eller som deler husstand med disse, for at være i risiko for at være bærer husdyr-MRSA (Sundhedsstyrelsen, 2016).

I Danmark er husdyr-MRSA hyppigt forekommende i svineproduktionen, hvoraf knap 90 % af besætningerne var positive i 2016 (DANMAP, 2017). I 2013, blev husdyr-MRSA for første gang isoleret fra en mink (Hansen et al., 2017). Hos mink huses bakterien hyppigst på poter og i svælget, i modsætning til svin, hvor den typisk lokaliserer sig i næseslimhinden og på huden (Hansen et al., 2017). I forbindelse med pelsning i 2015 gennemførte Fødevarestyrelsen en screening af danske minkgårde, hvor 40 % (20/50) af gårdene blev fundet positive for MRSA. Det formodes, at husdyr-MRSA i mink skyldes fodring med kontamineret slagtestvineaffald (Hansen et al., 2017).

Formålet med dette studium, var at undersøge forekomsten af husdyr-MRSA på gård-niveau. Således ønskede vi at undersøge andelen af mink som var positive for husdyr-MRSA samt undersøge miljø-reservoiret af bakterien på fem danske minkgårde.

Materiale og metoder

To praktiserende dyrlæger hjalp med formidling af kontakt til fem deltagende gårde. De fem gårde deltog herefter i en tværsnitsundersøgelse med gentagne målinger i perioden maj-september 2017.

Information om gårdstørrelse og medicinforbrug fandtes i henholdsvis det Centrale Husdyr Register (CHR) og Vet-Stat. Antibiotikaforbruget på gårdniveau blev estimeret på baggrund af ordinationer registreret i VetStat. For at tage

højde for sæsonvariationer i antibiotikaforbruget, inkluderede vi alle ordinationer udskrevet 12 måneder inden prøveindsamlingsperioden, fra 1. august 2016 til 31. juli 2017. Antibiotikaforbruget blev aggregeret på en månedlig basis og kvantificeret som defined animal daily doses per kg biomasse ($DADD_{kg}$ /kg biomasse), som tager højde for dyrenes vækst henover året. Enheden $DADD_{kg}$ /kg biomasse estimerer antallet af behandlingsdage, som den givne mink population på gården kan behandles.

Kadaverprøver

Hver af de fem deltagende gårde blev bedt om at indsamle 300 mink kadavere henover perioden, fordelt som 100 mink fra hver af månederne maj, juni og juli 2017. Kadaverne blev indsamlet i plastikposer, hvorpå fødsels- og afgangsdato blev påført. Herefter blev kadaverne frosset og transporteret til DTU Veterinærinstituttet. Fra hvert kadaver, blev udtaget en svælgsvaber med steril vatpind og højre forpote blev dissekeret ved karpal-leddet (Figur 1A og 1B). Prøverne blev henholdsvis tilsat 3 og 30 ml Müller-Hinton bouillon med 6,5% NaCl (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom) og inkuberet i 18-24 timer ved 37°C. Herefter blev 10 µl bouillon udsået på Brilliance™ MRSA2 agar plader (Oxoid) og yderligere inkuberet 18-24 timer ved 37°C. Suspekter *Staphylococcus aureus* kolonier blev verificeret ved matrix-assisted laser desorption ionisation (MALDI-TOF mass spectrometry). Kadaveret blev karakteriseret som positiv for husdyr-MRSA, hvis enten svælgsvaber eller pote fandtes positiv.

Miljøprøver

Miljøprøver blev indsamlet i slutningen af prøveindsamlingsperioden, august-september 2017. Alle prøver blev

TABEL 1 FOREKOMST AF HUSDYR-MRSA FRA 644 MINK KADAVERE OG MILJØPRØVER FRA FEM DANSKE MINKGÅRDE, MAJ-SEPTEMBER 2017. ANGIVET PRÆVALENS (%) [95% KONFIDENS INTERVAL] (ANTAL POSITIVE MINK/TOTALT ANTAL TESTEDE MINK). RØD: MRSA PÅVIST. GRØN: MRSA IKKE PÅVIST.

	GÅRD 1	GÅRD 2	GÅRD 3	GÅRD 4	GÅRD 5
Mink – hvalpe	20[13;29] (18/91)	0[0;2] (0/188)	34[26;44] (36/105)	25[15;41] (10/39)	29[22;38] (35/119)
Mink – avlsdyr	0[0;79] (0/1)	0[0;7] (0/53)	0[0;11] (0/31)	25[10;49] (4/16)	25[10;49] (4/16)
Foder	●	●	●	●	●
Handsker	●	●	●	●	●
Bure (overflade)	●	●	●	●	●
Bure (mellemrum)	●	●	●	●	●
Redekasser	●	●	●	●	●
Luft	●	●	●	●	●

ALLE SEKVENTEREDE ISOLATER TILHØRTE CC398 OG DESUDEN L3-KLONEN, SOM ER EN AF DE TRE DOMINERENDE KLONER I DANSK SVINEPRODUKTION (ISLAM ET AL., 2017; SIEBER ET AL., 2018).

indsamlet af samme person. Imellem hver prøve blev der skriftet handsker. Fra hver deltagende gård blev der indsamlet følgende prøver:

- **Foder:** En foderprøve indsamlet fra fodertanken eller fra nyligt afsat foder på overfladen af burene. I laboratoriet blev afmålt 10 g foder og tilsat 90 ml Mueller-Hinton bouillon med 6,5% NaCl (Oxoid), inkuberet natten over ved 37°C og udpladet på Brillance MRSA 2 agar (Oxoid).
- **Luftprøver:** Tre luftprøver blev taget på hver gård i forskellige staldafsnit, således at både lukkede haller og åbne to-rækkede haller var repræsenteret. Luftprøverne blev indsamlet ved indslag af luft på et gelatinefilter påsat Sartorius Airport MD8, sat til den maksimale kapacitet under de givne forhold (volume=750 l, hastighed=50 l/min), svarende til en minimumdetektionsgrænse på <1 cfu/m³ luft. Gelatinefilteret blev efterfølgende placeret direkte på en Brillance MRSA 2 agar (Oxoid) og inkuberet ved 37°C natten over.
- **Handske:** En handske, hvormed avlerne håndterer minkene, blev grundigt aftørret med en steril klud (Sodibox). Kluden blev efterfølgende genindsat i den oprindelige pose, tilsat 100 ml Mueller-Hinton bouillon med 6,5% NaCl (Oxoid), stomached 30 sekunder ved 230 rpm (Stomacher 400 circulator, Seward), inkuberet natten over ved 37°C og efterfølgende udsået på selektiv og indikativ Brillance MRSA 2 agar (Oxoid).
- **Bure:** Ti prøver fra henholdsvis:
 - o Overfladen af burene i området hvor foderet fordeles (Figur 1C). En steril klud (Sodibox) blev brugt til at svabre cirka 100 cm² overflade af fem til ti bure.
 - o Mellemrum mellem fag af bure (Figur 1D). En steril klud (Sodibox) blev brugt til at svabre cirka 50 cm² overflade fra tre til fem mellemrumsområder.
 - o Indersiden af redekassen. En steril klud (Sodibox) blev brugt per redekasse. Indersiden af redekassen blev svabret, svarende til et område på cirka 300 cm².

Klude brugt til aftørring af bure blev i laboratoriet håndteret på samme måde som klude brugt til aftørring af handsker. Suspekter *Staphylococcus aureus* kolonier blev verificeret ved MALDI-TOF mass spectrometry.

Helgenomsekventering

Fra hver gård med positive husdyr-MRSA prøver, blev udtaget tre isolater fra mink (to fra svælg, en fra pote) samt et miljø-isolat fra hvert positivt niche. DNA blev isoleret via Maxwell® 16 LEV Blood DNA kit (Promega) ud fra producentens vejledning og med tilsætning af stafylokin. Det blev efterfølgende sendt til sekventering på en Illumina Nextera XT i en 150 bp paired end-konfiguration på Statens Serum Institut. Sekvenserne blev analyseret via et program, der producerer annoterede og typede genomer. Desuden blev sekvenser fra 86 husdyr-MRSA isolater fra mink og minkfoder (Hansen, 2017) inkluderet til sammenligning. Et fylogenetisk træ blev lavet ud fra genomerne og visualiseret i R version 3.4.1. (R Core Team, 2014).

Databehandling

Alle resultater blev manuelt registreret i Excel 2016, Microsoft Office og efterfølgende eksporteret til R version 3.4.1 (R Core Team, 2014) for yderligere databehandling. Vi anvendte en McNemar test til at teste signifikant forskel i forekomsten af husdyr-MRSA på parrede prøver (svælgsvaber og pote). Ydermere beregnede vi den tilsyneladende prævalens og 95% konfidensintervaller ud fra Wilson metoden, ved hjælp af binom pakken i R (Dorai-Raj, 2014).

Resultater

To gårde fra Sjælland og tre gårde fra Jylland deltog i undersøgelsen. Gårdene modtog foder fra tre forskellige fodercentraler. Gårdstørrelsen varierede fra 1.200 til 4.100 avlshunner.

Alle gårde fik ordineret antibiotika i løbet af prøveindsamlingsperioden med undtagelse af Gård 2. Seneste ordination til Gård 2 var i efteråret 2016. På daværende tidspunkt havde farmen fået ordineret makrolider til otte dages behandling, men havde siden da ikke anvendt antibiotika. Af de øvrige fire gårde havde tre fået ordineret antibiotika i løbet af prøveindsamlingsperioden, bestående af tetracyclin og/eller penicillin til oral administration, mens Gård 5 havde modtaget andre typer antibiotika til oral administration og små mængder penicillin til parenteral administration. Ingen af de fem deltagende gårde havde fået ordineret cephalosporiner indenfor det seneste år, i overensstemmelse med at der generelt ikke er ordineret cephalosporiner til danske mink i de senere år (DANMAP 2017, DANMAP 2016, DANMAP 2015).

Totalt blev 644 kadavere indsendt fra de fem gårde i løbet af prøveindsamlingsperioden, fordelt som 542 minkhvalpe og 102 avlsdyr. Minkhvalpene havde en gennemsnitsalder på 29 dage (8-48 dage) i maj (n=45), 48 dage (23-87 dage) i juni (n=311) og 72 dage (37-95 dage) i juli (n=152). Fødsels- og afgangsdato manglede for 21 hvalpe, mens fødselsdato yderligere manglede for 13 hvalpe. Således kunne alderen ikke beregnes for 34 hvalpe; 27 fra Gård 1 og syv fra Gård 5.

Husdyr-MRSA blev isoleret fra mink i fire ud af fem gårde. På positive gårde, fandtes den overordnede dyre-prævalens fra 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%}. Prævalens i forhold til aldersgrupper er præsenteret i Tabel 1. Den yngste hvalp, hvorfra husdyr-MRSA blev isoleret, var 28 dage gammel og stammede fra Gård 5. På denne hvalp fandtes både svælg og pote positive for husdyr-MRSA.

På gårde, hvorfra husdyr-MRSA blev isoleret fra dyrene (Gård 1, Gård 3, Gård 4 og Gård 5), kunne bakterien også isoleres fra miljøet. Overordnet set, kunne husdyr-MRSA isoleres fra alle testede miljø-nicher (foder, handsker, bure (overflader, mellemrum og redekasser)), med undtagelse af luft, Tabel 1. Eftersom det undersøgte luftvolumen var 750 l, vil det sige, at vi fandt en koncentration af husdyr-MRSA i luften på <1 cfu/m³.

Diskussion

I dette studium, isolerede vi husdyr-MRSA fra alle fem deltagende gårde. På fire af gårdene fandt vi husdyr-MRSA i såvel mink som i miljø, mens bakterien kun blev isoleret fra foderet i den sidste gård (Gård 2). På Gård 1, Gård 3, Gård 4 og Gård 5 fandtes husdyr-MRSA i 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%} af dyrene. Der fandtes kun husdyr-MRSA i avlsdyrene fra én gård, Gård 4 (Tabel 1). Dette kan skyldes en lavere forekomst af husdyr-MRSA hos de voksne mink, men kan også forklares ved det lavere antal testede avlsdyr (n=49) i forhold til hvalpe (n=354) fra de fire gårde med positive kadavere. Den yngste positive hvalp var 28 dage gammel, hvilket tyder på en direkte smitteoverførsel fra hunnen eller et kontamineret miljø.

På de fire gårde med positive mink kadavere, var bakterien vidt udbredt i miljøet. Således kunne husdyr-MRSA isoleres fra alle testede miljø-nicher (foder, handsker, burtråd (overflade/mellemrum) og redekasser) i mindst én af farmene. I denne undersøgelse var det ikke muligt at isolere husdyr-MRSA fra luften på minkgårde, hvilket vil sige at koncentrationen var <1 cfu/m³ luft. Til sammen-

ligning er der fundet koncentrationen i svinebesætninger på op til 5000 cfu/m³ luft, og der er fundet en positiv sammenhæng imellem koncentrationen af husdyr-MRSA i luften og risikoen for genfund af bakterien i næseslimhinden på mennesker efter ophold i staldmiljøet (Angen et al., 2017). Risikoen for human luftbåren smitte fra minkgårde synes således minimal. En mulig forklaring på forskellen i luftkoncentrationer, kan findes i de forskellige produktionsystemer, hvor minkgårde typisk er åbne med højere grad af ventilation i forhold til konventionelle svinebesætninger.

Det er uvist, hvorfor bakterien ikke har etableret sig på mink og i miljøet af Gård 2, men den minimale brug af antibiotika, sammenlignet med de andre fire gårde, spiller muligvis en rolle.

Foderet blev fundet positivt på Gård 1 og Gård 2. Gårdene fik leveret foder fra samme producent, men foderet var indsamlet på forskellige dage. Forekomsten af husdyr-MRSA i foderet må formodes at variere over tid i forhold til forekomsten i foder-råvarer. Dette er dog ikke undersøgt. Ligeledes findes ingen undersøgelser af koncentrationen af husdyr-MRSA i foderet, hvilket ville være vigtig information i forhold til undersøgelse af infektionsdosis. Foderprøverne fra Gård 3, Gård 4 og Gård 5 var alle negative, men dette udelukker ikke at tidligere foderprøver kan have været positive.

Husdyr-MRSA i mink menes at stamme fra kontamineret mink foder på grund af den anatomiske placering på dyret (svælg og poter), identificerede spa-typer (t034 og t011) stemmer overens med typerne fundet i danske svinebesætninger og 19 % (20/108) minkfoderprøver positive for husdyr-MRSA i 2016 (Hansen et al., 2017). Ligeledes bekræftede et nyligt studium, at det er muligt at genfinde husdyr-MRSA i svælg og på poter af mink i mere end 26 dage efter de er blevet eksponeret for husdyr-MRSA i foderet (Fertner et al., In Press).

Sekventeringsresultater fra dette studium bekræftede yderligere, at de fundne isolater tilhørte L3-klonen, som er den klon i dansk svineproduktion med stigende forekomst (Sieber et al., 2018).

Konklusion

På fire ud af fem gårde blev isoleret husdyr-MRSA fra 20% [13;29]_{C195%} til 29% [22;38]_{C195%} af minkene og bakterien var vidt udbredt i miljøet. Bakterien kunne isoleres fra hvalpe allerede inden fravænning, formentlig overført fra hunnen eller et kontamineret miljø. Husdyr-MRSA kunne ikke isoleres fra luften af de undersøgte gårde. Luftbåren smitte anses således som usandsynlig og overførsel af bakterien må antages at være mulig gennem håndtering af foderet, bid eller ved krads fra mink.

Tak

Studiet blev støttet af Pelsdyrafgiftsfonden 2017, Landbrugsstyrelsen (bevilling nr. 33010-NIFA-14-612), og Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet.

Tak til deltagende avlere og praktiserende dyrlæger Jan Kjeldsen, LVK, og Bjarne Petersen, Vet-Team, for formidlingen af kontakt. Tak til laborant Katja Ann Kristensen for hjælp i laboratoriet.

Referencer

- Angen, Ø., Feld, L., Larsen, J., Rostgaard, K., Skov, R., 2017. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to human volunteers visiting a swine farm. Appl. Environ. Microbiol. 83, 1–10. doi:10.1128/AEM.01489-17
- DANMAP, 2017. DANMAP 2016 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. <https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap-2017/danmap2017.pdf?la=en>
- DANMAP, 2016. DANMAP 2015 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap-2016/danmap_2016_web.pdf?la=en
- DANMAP, 2015. DANMAP 2014 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. <https://www.danmap.org/-/media/arkiv/projekt-sites/danmap/danmap-reports/danmap--2015/danmap-2015.pdf?la=en>
- Dorai-Raj, S., 2014. R package 'binom .' <https://cran.r-project.org/web/packages/binom/binom.pdf>
- Fertner, M., Pedersen, K., Chriél, M. Experimental exposure of farmed mink (*Neovison vison*) to livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contaminated feed. Vet. Microbiol. (In Press). <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.02.033>.
- Hansen, J.E., Larsen, A.R., Skov, R.L., Chriél, M., Larsen, G., Angen, Ø., Larsen, J., Lassen, D.C.K., Pedersen, K., 2017. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is widespread in farmed mink (*Neovison vison*). Vet. Microbiol. 207, 44–49. doi:10.1016/j.vetmic.2017.05.027
- Islam, M.Z., Espinosa-Gongora, C., Damborg, P., Sieber, R.N., Munk, R., Husted, L., Moodley, A., Skov, R., Larsen, J., Guardabassi, L., 2017. Horses in Denmark are a reservoir of diverse clones of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus*. Front. Microbiol. 8, 1–10. doi:10.3389/fmicb.2017.00543
- R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing.
- Sieber, R.N., Skov, R.L., Nielsen, J., Schulz, J., Price, L.B., Aarestrup, F.M., Larsen, A.R., Stegger, M., Larsen, J. 2018. Drivers and dynamics of methicillin-resistant livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398 in pigs and humans in Denmark. mBio (Accepted for publication).
- Sundhedsstyrelsen, 2016. Vejledning om forebyggelse af spredning af MRSA. 3. udgave. <https://www.ssi.dk/~media/Indhold/DK%20-%20dansk/Smitteberedskab/Infektionshygiejne/MRSA/MRSA%20Vejledning%20SST.ashx>
- Van Cleef, B.A.G.L., Monnet, D.L., Voss, A., Krziwanek, K., Allerberger, F., Struelens, M., Zemlickova, H., Skov, R.L., Vuopio-Varkila, J., Cuny, C., Friedrich, A.W., Spiliopoulou I., Pászti, J., Hardardottir, H., Rossney, A., Pan, A., Pantosti, A., Borg, M., Grundmann, H., Mueller-Premru, M., Olsson-Liljequist, B., Widmer, A.F., Harbarth, S., Schweiger, A., Unal, S. and Kluytmans, J.A.J.W., 2011. Livestock-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Humans, Europe. Emerg. Infect. Dis. 17. ✕

VACCINATION AF HUNNER I VINTERPERIODEN FOR AT STYRKE DERES GENERELLE IMMUNITET

Af Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Sammendrag

Formålet med forsøget var at se, hvorvidt en generel styrkelse at mink hunnernes immunitet gennem vaccination (adjuvans) kan gøre at de har en mere problemfri dieperiode og mindre udfordringer med bl.a. fedtede hvalpe og yverbetændelse. Til undersøgelsen blev anvendt to hold med hver 79 anden års og 250 første års brune minkhunner. Det ene hold blev vaccineret i januar mod hvalpesyge og virus enteritis for at styrke deres generelle immunitet. Anden års hunner i det vaccinerede hold havde signifikant flere hvalpe ved fødsel og ved dag 28, i forhold til kontrolholdet. Samtidig blev set lidt lavere tilvækst hos hanhvalpene hos disse hunner i forhold til hanhvalpe hos anden års hunner i kontrolholdet. Der blev i denne undersøgelse ikke vist nogen signifikant forskel i antal behandlinger gennem dieperioden og antal døde hunner ved at vaccinere hunnerne i januar.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Vaccination af hunner i vinterperioden for at styrke deres generelle immunitet. Faglig Årsberetning 2018, 144-147. Kopenhagen Fur Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Keywords: kropsvægte, kuldstørrelse, sundhed, immunitet

Abstract

The purpose of the investigation was to see whether a general enhancement of the immunity of females through vaccination (adjuvant) can reduce disease problems in the nursing period with fewer greasy kits and mastitis. To the investigation we used two groups with each 79 second year and 250 first year brown mink females. One group was vaccinated in January against Distemper and Virus enteritis in order to strengthen their overall immunity. There were significantly higher numbers of kits at birth and day 28 in second year females in the vaccinated group, compared to the control group. Concurrently, a slightly lower body weight increase in male kits from these females

compared to male kits from second year females in the control group. In this study, no significant difference in the number of treatments during the period and the number of dead females was found by vaccinating the females in January.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2019. Vaccination of females during the winter period to enhance their overall immunity. Annual Report 2018, 144-147. Kopenhagen Fur Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

Keywords: body weight, litter size, health, immunity

Introduktion

Vaccination er en forebyggelsesmetode, som benyttes til at styrke immunforsvaret (skabe immunitet) uden at kroppen nødvendigvis skal gennemgå et helt sygdomsforløb, som ellers er tilfældet ved en naturlig erhvervelse af immunitet. De fleste ældre vacciner består af hele bakterier / virus og har den fordel, at kroppen uden problemer genkender mikroorganismene som noget farligt, men de fleste moderne vacciner består af meget små dele fra den virus eller bakterie, som er årsag til sygdommen. Vacciner har behov for hjælpestoffer for få den mest effektive immunrespons og man har i 100 år haft succes med at bruge adjuvanter. De mest anvendte adjuvanter i vacciner i dag er aluminiumadjuvanter, oftest aluminiumhydroxid, men der forskes i mere moderne adjuvanter der præcis skubber reaktionen derhen, hvor den bedst forstærker effekten af vaccinen (Statens Serum Institut, 2017). Undersøgelsen i dieperioden 2017 blev udført for at se, hvorvidt en generel styrkelse at hunnernes immunitet gennem vaccination (adjuvans) kan gøre, at de har en mere problemfri dieperiode og mindre udfordringer med bl.a. fedtede hvalpe og yverbetændelse.

Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt to hold á 79 anden års og 250 unge brune minkhunner. Holdene blev fodret og pas-

set ens, eneste forskel mellem kontrolholdet (KON) og forsøgsholdet var at hunnerne i forsøgsholdet (VAC) blev vaccineret mod hvalpesyge og virus enteritis d. 19/1 (Febrivac DE). Andenårs hunnerne blev vejet i september, unghunnerne blev vejet ved sortering 1. nov., alle hunner blev dernæst vejet 16. dec., 4. jan., 20. febr., samt dag 28 og dag 42 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, samt talt og vejet dag 28 og ved afslutning af forsøget dag 42. Døde dyr blev indsamlet og obduceret. Sygdomme, flyttede hvalpe, hvalpe med bid samt anvendelse af kanin-vandflasker blev noteret. Dag 42 blev foretaget individuel fravænnning af store kuld (Clausen & Larsen, 2015).

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS (SAS Institute Inc., 1996). Proceduren GLM blev anvendt med 5% som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Frekvensforskelle blev testet med proceduren Probit.

Resultater og diskussion

Der var ikke forskel mellem grupperne, KON og VAC, i hunnernes vægtudvikling gennem vinterperioden (tabel 1). Goldprocenten var ikke forskellig, 7,6 i KON og 9,4 i VAC.

TABEL 1 HUNNERNES GENNEMSNITLIGE VÆGTUDVIKLING Gennem VINTERPERIODEN, GRAM

HUNNENS ALDER	HOLD	VÆGT 22. SEP		VÆGT 1. NOV		VÆGT 16. DEC		VÆGT 4. JAN		VÆGT 20. FEBR	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
2. års	KON	1674	268	1825	267	1786	253	1674	248	1426	188
2. års	VAC	1675	283	1831	271	1789	271	1681	262	1452	195
p-værdi		NS		NS		NS		NS		NS	
1. års	KON			1973	167	1906	224	1721	215	1345	184
1. års	VAC			1981	170	1903	213	1725	210	1337	178
p-værdi				NS		NS		NS		NS	

KUN 2. ÅRS HUNNER, VED DE ANDRE VARIABLE ER UNG OG ÆLDRE HUNNER SAMLET; GENN ER GENNEMSITTET; STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL;

Kuldstørrelsen ved fødsel og dag 28 (tabel 2) var forskellig mellem holdene for anden års hunnerne, men ikke for ung hunnernes vedkommende. Dag 42 var forskellen i kuld-

størrelsen hos anden års hunnerne ikke signifikant, men der var stadig tendens til flest hvalpe i det vaccinerede hold (tabel 2).

TABEL 2 KULDSTØRRELSE OG HVALPETAB Gennem DIEPERIODEN.

HUNNENS ALDER	HOLD	LEVENDE V. FØDSEL		DØDE V. FØDSEL		ANTAL HVALPE V. DAG 28		ANTAL HVALPE V. DAG 42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
2. års	KON	7,0	2,2	0,18	0,65	6,7	2,2	6,5	2,4
2. års	VAC	7,8	2,2	0,16	0,37	7,5	2,0	7,2	2,1
p-værdi		0,03		NS		0,03		{0,07}	
1. års	KON	7,1	2,7	0,50	0,96	6,4	2,6	6,1	2,7
1. års	VAC	6,9	2,5	0,48	0,94	6,3	2,4	5,8	2,6
p-værdi		NS		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSITTET; STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL;

I hele perioden 1/1-2018 til 1/7-2018 døde der 5,7 % (KON) og 5,2 % (VAC) af hunnerne. Der var færre døde og færre behandlede hunner i VAC holdet, men forskellen var ikke signifikant (tabel 3). Der var meget små forskelle i fre-

kvensen af behandlinger og døde hunner mellem de to hold. For at finde en signifikant forskel mellem 4,3 og 5,8 % behandlinger i de to hold, skal der være mere end 3000 hunner i hvert hold, holdstørrelsen er således for lille.

TABEL 3 DØDE OG BEHANDLEDE HUNNER I PERIODEN FØDSEL TIL 30/6-2018.

HOLD	ANTAL KULD	DØDE HUNNER ANTAL / %	DIAGNOSE I ALT ANTAL / %	DIAGNOSE ANTAL / %		
				FEDTEDE HVALPE	YVERBETÆNDELSE	ANDET *
KON	1674	268	1825	267	1786	253
VAC	1675	283	1831	271	1789	271
p-værdi		NS	NS	NS		

* EVT. BÅDE YVERBETÆNDELSE OG FEDTEDE HVALPE; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL;

Der var meget få hvalpe med bid i holdene (4 i KON og 3 i VAC), i hver af holdene var det i ét tilfælde hunnen der aflivede hvalpen.

anden års hunnerne var der en tendens til lavere vægt i VAC holdet dag 28, uden at der synes nogen forklaring på dette, og vægttabet gennem perioden var ikke forskellig (tabel 4).

Hunnernes vægtudvikling gennem dieperioden var ikke forskellig mellem VAC og KON holdet (tabel 4). Blandt

TABEL 4 HUNNERNES VÆGT DAG 28 OG DAG 42 SAMT VÆGT TABET FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM

HUNNENS ALDER	HOLD	ANTAL	HUN VÆGT DAG 28		HUN VÆGT DAG 42		HUN VÆGT TAB 28 - 42	
			GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
2. års	KON	48	1636	178	1463	179	174	96
2. års	VAC	42	1556	171	1400	196	159	122
p-værdi			(0,06)		NS		NS	
1. års	KON	120	1677	186	1512	200	166	99
1. års	VAC	111	1657	186	1497	229	161	107
p-værdi			NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNITTET; STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL;

Hvalpenes vægtudvikling (tabel 5) var ikke forskellig for ung hunnernes vedkommende, men for anden års hunnerne var der bedre tilvækst hos han hvalpene fra dag 28 til dag 42 i KON frem for VAC og en tendens til bedre han hvalpe vægt dag 42 i KON. En medvirkende faktor kan være at hvalpenes vægt er meget afhængig af kuld-

størrelsen, således at mange hvalpe i kuldet giver lavere vægte. Hos anden års hunnerne i KON var der dag 42 0,7 hvalp mindre pr kuld i forhold til anden års hunnerne i VAC (tabel 2), kuldstørrelsen er dog medtaget i de statistiske beregninger.

TABEL 5 HVALPENES VÆGT DAG 28 OG DAG 42 OG TILVÆKST FRA DAG 28 TIL DAG 42, GRAM.

HUN- NENS ALDER	HOLD	HAN HVALPE DAG 28		HUN HVALPE DAG 28		HAN HVALPE DAG 42		HUN HVALPE DAG 42		TILVÆKST HANHVALPE DAG 28-42		TILVÆKST HUNHVALPE DAG 28-42	
		GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD	GENN	STD
2. års	KON	213	32	195	28	432	69	373	60	218	51	178	45
2. års	VAC	206	26	185	22	400	60	359	48	194	43	174	35
p-værdi		NS		NS		(0,08)		NS		0,05		NS	
1. års	KON	174	28	161	30	359	65	326	57	185	48	166	43
1. års	VAC	180	33	164	30	359	69	332	57	178	50	166	39
p-værdi		NS		NS		NS		NS		NS		NS	

GENN ER GENNEMSNITTET; STD ER SPREDNINGEN; NS ANGIVER AT DER IKKE ER FORSKEL;

Konklusion

Der var signifikant flere hvalpe ved fødsel og ved dag 28 hos anden års hunner i VAC holdet. I forhold til KON holdet. Dette kan eventuelt forklare den lidt lavere tilvækst hos hanhvalpene hos disse hunner i forhold til hanhvalpe hos anden års hunner i KON. Der blev i denne undersøgelse ikke vist nogen signifikant forskel i antal behandlinger gennem dieperioden og antal døde hunner ved at vaccinere hunnerne i januar.

Referencer

Statens Serum Institut, 2017, Vaccine adjuvant research. Department of Infectious Disease Immunology. ✕

Kopenhagen Fur Forskning
Agro Food Park 15
DK-8200 Aarhus N
Tlf.: 7213 2800
forskning@kopenhagenfur.com

